



DOI: 10.15593/RZhBiomeh/2019.4.10

УДК 616-005.1:616-001.36

ОЦЕНКА КРОВООБРАЩЕНИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОПУХОЛЕВОМ ПАРАНЕОПЛАСТИЦИЗМЕ

М.М. Манцкава^{1,2}, Ю.И. Няшин³, В.А. Лохов³

¹ Университет Европы, Грузия, 0141, Тбилиси, пр. Гурамишвили, 76, e-mail: mantskavamaka@bk.ru

² Центр экспериментальной биомедицины им. Ивана Бериташвили, Грузия, 0161, Тбилиси, ул. Готуа, 14, e-mail: biomedicine.med@gmail.com

³ Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Россия, 914990, Пермь, Комсомольский проспект, 29, e-mail: nyashin@inbox.ru

Аннотация. Работа является частью проекта, в рамках которого авторы исследовали интенсивность кровообращения у экспериментальных животных непосредственно в области роста онкологических клеток и на периферии путем мониторинга локальной интенсивности кровотока, интенсивности гемолиза, деформации мембран эритроцитов и их агрегационной способности. Эти величины сравнивались друг с другом и с аналогичными показателями контрольных животных. Результаты исследования рассматривались в срезе паранеопластического синдрома как базисного патофизиологического свойства организма регулировать, воспрепятствовать и не распространять чужеродные клетки. Авторы планируют с помощью цифровых технологий и математического моделирования, используя экспериментальные данные, дать описание паранеопластических реакций организма, транспортировав „паранеопластицизм“ в систему уравнений биомеханики.

Ключевые слова: паранеопластический синдром, агрегация эритроцитов, деформируемость эритроцитов, интенсивность локального кровотока.

ВВЕДЕНИЕ, ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

В современном мире биомедицины должное внимание уделяется механизмам воздействия злокачественной опухоли на организм человека. Среди множества паранеопластических процессов особое место занимают изменения мембран эритроцитов, их агрегационной способности и кровообращения, особенно регионарного и микроциркуляторного, которые играют важнейшую роль в нормальном функционировании организма и наряду с этим являются весьма реактивными и ранимыми, легко и быстро отражающими патологические отклонения, происходящие в организме. Кровообращение во всех видах тканей – с нормальным механизмом роста и опухолевых – является основным объектом внимания исследователей, так как именно от кровоснабжения зависит процесс роста. Нормальное функционирование органов, их адекватный ответ на воздействия лекарственных средств во многом зависит от микроциркуляции и кровообращения в целом при опухолевых процессах в организме. И это способно отражаться на качестве и продолжительности жизни больных.

© Манцкава М.М., Няшин Ю.И., Лохов В.А., 2019

Манцкава Майя Михайловна, д.б.н., профессор медицинской школы, начальник департамента реологии и диагностико-аналитических сервисов Тбилиси

Няшин Юрий Иванович, д.т.н., профессор кафедры вычислительной математики, механики и биомеханики, Пермь

Лохов Валерий Александрович, к.ф.-м.н., доцент кафедры вычислительной математики, механики и биомеханики, Пермь

Паранеопластические изменения сопутствуют и резко отягощают течение первичного заболевания, нередко являются непосредственной причиной инвалидности и летальности онкологических больных [4]. Интенсивность кровотока и микроциркуляции во многом зависит от реологии крови, которую, в свою очередь, определяет поверхностное натяжение крови и функциональное состояние эритроцитов, их способность к агрегации и деформированию, а также стойкость к преждевременному лизису. Изучение кровообращения в тканях организма с опухолью и механизмов дистанционных изменений гемоциркуляции дает возможность рассматривать гемоциркуляторные расстройства при опухолевой болезни как системное действие опухоли на организм.

Паранеопластические нарушения вышеупомянутых взаимосвязанных процессов, возможно, играют важную роль в развитии генерализованной гипоксии, характерной для злокачественного опухолевого роста, и определяют развитие как самой опухолевой ткани, так и состояния организма в целом. Следовательно, установление механизмов паранеопластических нарушений в организме и их патогенетическая коррекция улучшили бы эффективность лечения больных злокачественными опухолями, предугадали, нарушение какого звена дает необратимые процессы, на что обратить внимание при планировании превентивных мероприятий в первую очередь [7].

Работа имела дуальную цель, которая состояла в исследовании кровообращения путем мониторинга в приводящих артериях околоопухолевых тканей в местах прививки онкоклеток, локальной интенсивности кровотока, интенсивности гемолиза, деформации мембран эритроцитов и их агрегационной способности в пробах крови этих артерий на разных периодах развития онкологического роста и в сравнении этих величин с аналогичными на периферии, где в тканях не обнаружены опухолевые включения. Достижение цели прольет свет на опухолевый паранеопластизм как базисное патофизиологическое свойство организма регулировать, препятствовать и не распространять чужеродные клетки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Согласно принципу 3R [5], эксперименты проводились на 21 особи лабораторных крыс самцов весом 200–235 г, на 7-й, 14-й и 21-й день после прививки карциномы Эрлиха. Привитие опухоли проводили подкожно в область левого бедра.

Оценивая кровообращение, мы измеряли интенсивность локального кровотока при помощи ультразвукового доплеровского метода (*D.O.P.1234.8*, Германия) в местах пульсации приводящих артерий в опухолевых тканях в области левого бедра и неопухолевых тканях на периферии. В пробах крови *in vitro*, собранной из приводящих артерий околоопухолевых тканей левого бедра и неопухолевых тканях измеряли: а) интенсивность лизиса путем расчета осмотической резистентности мембран эритроцитов на основе кинетики их лизиса, которая определялась высокочувствительным фото-электро-калориметрическим дифференциальным методом [1]; б) деформируемость мембран эритроцитов фильтрационным методом, измеряя время прохождения суспензии эритроцитов через фильтр (*Filtrac-388*), до того центрифугируя 1 мл крови и 20 ед. гепарина (3000 об/мин) 5 мин, после чего 0,02 мл суспензии накапывали на фильтрующую бумагу; в) агрегационную способность эритроцитов методом текстурного анализа системы *TAS-plus, Leitz* (Германия), основанного на подсчете отношения агрегированных эритроцитов к неагрегированным в единице объема. Статистический анализ проводили при помощи программы статистической обработки *Origin 8.1*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований приведены в таблице. Опыты показали, что в процессе развития опухоли интенсивность локального кровотока в опухолевой ткани неуклонно падает. На 7-й день после прививки карциномы Эрлиха на периферии опухоли она равна 46,7 мл/мин/100г ткани, на 14-ый день – 34,1 мл/мин/100г ткани, а к 21-му дню она снижена до 19,7 мл/мин/100г ткани по сравнению с контролем. Аналогичные изменения наблюдались и в неопухолевых тканях опухолевых животных. При прогрессии опухоли в неопухолевых тканях бедренной области интенсивность кровотока неуклонно падает на 20, 40 и 50% приблизительно ($p < 0,001$). Максимальная интенсивность гемолиза эритроцитов увеличилась на 19% ($p < 0,01$), 14,3% ($p < 0,1$) и 28,6% ($p < 0,01$) в соответствующие дни, а степень их гетерогенности на 7-й день после прививки карциномы Эрлиха почти не изменялась, на 14-й день она увеличивалась только на 2,5%, а на 21-й день – на 12,7% ($p < 0,01$).

Сравнительное улучшение резистентности эритроцитов на 14-й день опухолевого роста объясняется усилением компенсаторного фактора эритропоэза как ответа на снижение количества эритроцитов. Что касается гетерогенности эритроцитов на 21-й день роста карциномы Эрлиха, то она вызвана истощением процесса эритропоэза. Ухудшение деформационной способности эритроцитов проявлялась на всех временных интервалах. На 7-й день после прививки карциномы Эрлиха деформируемость эритроцитов по сравнению с нормой снижалась приблизительно на 35%, к 14-му дню – на 30%, а к 21-му дню – на 45% соответственно ($p < 0,001$). Агрегируемость эритроцитов на 7-й и 14-й день практически не менялась по сравнению с нормой и имела маленькое недостоверное отличие между очагом опухоли и периферией в неопухолевых тканях, но на 21-й день наблюдалось резкое ухудшение, и по сравнению с контролем она изменялась на 70%. Опираясь на полученные данные, можно заключить, что в процессе роста злокачественных опухолей как в самой опухоли, так и в неопухолевых тканях опухолевых животных кровообращение резко ухудшается и прогрессивно снижается за счет всех компонентов, описывающих систему микроциркуляции. Можно предположить, что одной из причин ухудшения интенсивности локального кровотока является понижение деформируемости эритроцитов и повышение поверхностного натяжения крови. Повышенное поверхностное натяжение крови вместе с пониженной деформационной способностью эритроцитов отражается на реологии и текучести крови, что, в свою очередь, становится одной из важных причин нарушения микроциркуляции и локального кровотока у экспериментальных животных со злокачественными опухолями. Однако падение интенсивности локального кровотока связано с изменением сосудистого тонуса и редокс-статуса [3].

Мы установили, что рост в организме злокачественных опухолей сопровождается изменением редокс-статуса организма, играющего важную роль в механизме паранеопластических нарушений мембранных структур и локального кровообращения. Изменение содержания NO непосредственно принимает участие в пероксидационных процессах, в регуляции сосудистого тонуса и, следовательно, в кровоснабжении тканей. Учитывая тот факт, что усиление свободно радикальных процессов приводит к нарушениям микроциркуляции, вполне логично заключить, что усиление перекисных процессов при опухолевом росте приводит к паранеопластическому падению интенсивности локального кровотока в органах и тканях [6]. Следовательно, растущая опухоль оказывает все более подавляющее влияние на местное кровообращение в различных областях тела, обнаруживая системное воздействие опухоли на организм.

С одной стороны, падение интенсивности локального кровотока в опухолевой ткани можно рассматривать как позитивное явление, которое обуславливает низкий уровень кровоснабжения клеток и этим способствует деструкции тканей. Но если учесть, что то же самое происходит и в неопухолевых тканях организма, то необходимо найти способы поддержания низкого уровня интенсивности кровотока в опухолевой ткани и пути коррекции паранеопластических изменений, особенно для микроциркуляции и эритроцитов, тем более что агрегационная способность эритроцитов меняется только в приводящих артериях опухолевых тканей. С другой стороны, прогрессирующее падение интенсивности локального кровотока и деструкция опухолевой ткани приводит к интоксикации организма и генерализации опухолевого процесса путем метастазирования. Не исключено, что выявленное нами повышенное поверхностное натяжение крови при злокачественных опухолях играет важную роль и поддерживает процессы метастазирования, так как, по данным некоторых авторов [2, 8–11], поверхностно-активные вещества снижают адгезию клеток и этим препятствуют процессу метастазирования.

Средние величины интенсивности кровотока, деформируемости мембраны эритроцитов, агрегация эритроцитов, интенсивность гемолиза у непривитых контрольных животных ($n = 5$) и у привитых животных в очаге привития и неонкологических тканях на 7-й, 14-й, 21-й дни после прививки

Описание животных	Период эксперимента	Описание тканей	Интенсивность локального кровотока, мл/мин/100г	Деформируемость мембраны эритроцитов, ЕД	Показатель агрегации эритроцитов, %	Интенсивность гемолиза, %
КЖ	До эксперимента	НТ	$44,0 \pm 2,0$	$1,10 \pm 0,05$	$15,0 \pm 5,0$	$2,50 \pm 0,02$
ПЖ	7-й день	ОТ	$36,8 \pm 0,9$	$1,15 \pm 0,05$	$16,9 \pm 5,2$	$3,01 \pm 0,01$
		НТ	$46,0 \pm 1,3$	$1,10 \pm 0,05$	$15,9 \pm 2,9$	$2,50 \pm 0,02$
	14-й день	ОТ	$12,1 \pm 0,8$	$1,20 \pm 0,05$	$18,2 \pm 2,6$	$2,79 \pm 0,03$
		НТ	$34,1 \pm 1,5$	$1,15 \pm 0,05$	$15,8 \pm 1,3$	$2,52 \pm 0,06$
	21-й день	ОТ	$10,0 \pm 1,7$	$1,35 \pm 0,05$	$24,8 \pm 4,2$	$3,32 \pm 0,10$
		НТ	$19,7 \pm 2,5$	$1,25 \pm 0,05$	$23,6 \pm 3,2$	$2,75 \pm 0,09$

Список сокращений в таблице:

КЖ – контрольные животные без прививки,

ПЖ – привитые онкологические животные,

НТ – неопухолевые ткани,

ОТ – онкологические ткани

Важно отметить, что причиной ухудшения поверхностного натяжения крови считаются гипоальбуминемия, ацидоз, снижение или инактивация поверхностно-активных веществ [10]. Таким образом можно заключить, что в процессе роста привитых злокачественных опухолей как в самой опухоли, так и на периферии

изменяются все искомые параметры, но степень и однородность их изменения не установлена. Паранеопластизм в процессе роста злокачественных опухолей проявляется в снижении осмотической резистентности и деформационной способности мембран эритроцитов, когда повышается поверхностное натяжение крови [11]. Повышенное поверхностное натяжение крови вместе с пониженной деформационной способностью эритроцитов отражается на гемореологических факторах и ухудшает текучесть крови, что в свою очередь становится одной из важных причин нарушения кровообращения в целом. Однако то, что агрегируемость меняется только спустя, некоторое время, является обнадеживающим фактором с точки зрения клиники онкологических болезней. Для современного мира биомедицины приоритетным является качество жизни больного. Большое процентное увеличение агрегируемых эритроцитов в общем потоке крови прямо направленно вызывает стаз, что обычно и является причиной инсультов и инфарктов при последних стадиях развития онкоболезней.

Онкологические болезни и рак являются одним из тяжелых рецидивирующих недугов с большим количеством осложнений. Начиная с поражения оболочки органа вплоть до прорастания сквозь инвазивную пленку и края органа, опухоль способна разрастаться на близлежащие ткани и переходить на другие органы, часто с развитием метастазов. Ранняя диагностика рака улучшает и увеличивает вероятность благополучного исхода заболевания, улучшает качество жизни больного.

Попадающие в организм нитраты, нитриты, канцерогены, соли азотной и азотистой кислот и другие вещества, обладая химической активностью, способны нарушать целостность клеток, проникая в их структуру и вызывая их перерождение. Длительная терапия противовоспалительными препаратами, антибиотиками, кортикостероидами благоприятствует возникновению рака. Воздействие радиации, техногенных катастроф и экологических катаклизмов на фоне масштабной урбанизации также являются мощными факторами, способствующими возникновению онкологических болезней и рака. Анемии разной этиологии, алкоголь, курение, наркотики являются мощными провокаторами злокачественных новообразований. Перечень факторов, способствующих и провоцирующих заболевание, неограничен. Распространённость болезни велика, велик процент инвалидизации и летальности таких больных.

Данной проблеме посвящено большое количество трудов фундаментальной и прикладной биомедицины. Авторы в основном акцентируются на проблеме в разрезе онкологии, химиотерапии и хирургии, но не рассматривают эндорегуляторы организма, например такие, как паранеопластизм, который в свою очередь генерирует изменения систем организма под воздействием опухолевых клеток и рака, но в тоже время способствует урегулированию и обеспечивает нормальную жизнедеятельность других органов и систем, которые, с одной стороны, косвенно препятствуют быстрому развитию болезни, а с другой стороны, обеспечивают распространение раковых клеток по всему организму, образуя некий замкнутый круг.

Для полного мультидисциплинарного исследования рака и онкоболезней необходимо изучить вопросы вероятности возникновения болезни, вопросы приоритетных причин в каждом отдельном случае, рассчитать функциональную математическую зависимость вектора и скорости распространения опухоли от причины, вызывающей рак и многое другое. Именно эту цель преследовали авторы,

планируя данное исследование. Работа в этом направлении, с точки зрения авторов, прольет свет на многие, до сих пор не известные механизмы развития и стимуляции роста опухолей.

Актуальность проблемы определяется тем, что до сих пор не изучены патофизиологические механизмы с точки зрения биомеханики, не обобщены результаты и не выявлена тенденция исхода заболевания от нарушения биомеханических процессов в системах организма, тогда как паранеопластизм является биомеханическим понятием аккумуляции и суммирования энергий разных потенциальностей по разным направлениям. В эру цифровой науки методы математического моделирования и анализа (в частности, биомеханика) помогут разъяснить многое неизученное в онкоболезнях и раке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данная работа ведется в рамках Межнационального проекта, осуществляется на базе департамента реологии и диагностико-аналитических услуг Центра экспериментальной биомедицины им. И. Бериташвили и кафедры биомеханики Пермского национального исследовательского политехнического университета одновременно. В наших последующих научных работах мы постараемся с помощью цифровых технологий вместе с экспериментальными данными путем математического моделирования найти решение паранеопластических реакций организма, транспортировав «паранеопластизм» в систему уравнений биомеханики.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гамбашидзе К.Г., Петриашвили Т.Г., Бежиташвили Н.Д., Павлиашвили Н.С., Топуридзе М.Л. Роль пероксидационных процессов и оксида азота в механизме паранеопластических изменений кровообращения // Медицинские новости Грузии (*Georgian medical news*). – 2006. – № 1. – С. 101–104.
2. Гончарова Я.А., Евтушенко С.К., Симонян В.А., Сергиенко А.В., Евтушенко И.С., Гнилорыбов А.М. РОEMS-синдром как проявление паранеопластического процесса вследствие рака яичника // *Международ. неврол. журн.; МНЖ*. – 2012. – № 5 (51). – С. 143–146.
3. Кипиани В., Петриашвили Т., Гамбашидзе К. Роль изменений редокс-статуса тканей в механизме паранеоплазии // *Патология, физиология и экспериментальная терапия*. – 2006. – № 3. – С. 11–15.
4. Мамедов К., Рубинчик С.М. О вкладе азербайджанских ученых в изучение системного действия злокачественных опухолей // *Биомедицина (Баку)*. – 2019. – № 1. – С. 46 – 50.
5. Реализация принципов 3R по использованию животных в клинических испытаниях лекарств // *Новости GMP*. – 01 марта 2018. (электронный ресурс) <https://gmpnews.ru/2018/03/realizaciya-principov-3r-po-ispolzovaniyu-zhivotnyh-v-ki-lekarstv> (дата обращения 08.12.2019).
6. Череватская Е., Губергриц Н. Паранеопластические синдромы в гастроэнтерологии // *Вестник клуба панкреатологов*. – 2015. – № 1. – С. 51–56.
7. Чертоусова А.Е., Черникова И.В. Паранеопластические нейромышечные синдромы на амбулаторно-поликлиническом уровне // *Медицинский вестник Юга России*. – 2019. – №3. – С. 72–73.
8. Pelosof L.C., Gerber D.E. Paraneoplastic Syndromes: An Approach to Diagnosis and Treatment // *Mayo Clin. Proc.* – 2010. – Vol. 85, № 9. – P. 838–854.
9. Rees J.H. Paraneoplastic syndromes: when to suspect, how to confirm, and how to manage // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. – 2004. – Vol. 75. – P. 43–50.
10. Silk M., Sigman E. Effect of pluronic F-68 on the development of tumor metastasis // *J. Cancer*. – 1972. – Vol. 29, № 1. – P. 171–173.
11. Steen A., Steen K., Bieber T. Multiple paraneoplasia in the absence of a detectable tumour // *Acta Derm. Venereol.* – 2001. – Vol. 81, № 2. – P. 150.

THE STUDY OF BLOOD CIRCULATION AT EXPERIMENTAL TUMOR PARANEOPlasticISM

**M.M. Mantskava (Tbilisi, Georgia), Y.I. Nyashin, V.A. Lokhov
(Perm, Russian Federation)**

The work is part of a joint project in which the authors investigated the blood circulation in experimental animals directly in the area of oncological cell transplantation and in the periphery by monitoring intensity of the local blood, hemolysis intensity, deformation of erythrocyte membranes and their aggregation. These values were compared with each other and with similar indicators of control animals. The results of the study were considered in the context of paraneoplasticism as the basic pathophysiological properties of the body to regulate, inhibit and not spread foreign cells. The authors plan to find a solution to the paraneoplastic reactions of the body using digital technology in conjunction with experimental data by mathematical modelling, transporting “paraneoplasticism” into the system of equations.

Key words: paraneoplastic syndrome, red blood cell aggregation, erythrocyte deformability, local blood flow intensity.

Получено 1 декабря 2019