

ВЛИЯНИЕ 10 % РАСТВОРА ХЛОРИДА КАЛЬЦИЯ И ЕГО 6- И 12-СОТЕННЫХ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ РАЗВЕДЕНИЙ НА АКТИВНОСТЬ АПОПТОЗА БОЛЬШИХ ДЕЦИДУАЛЬНЫХ КЛЕТОК

В.А. Линде¹, А.М. Маржевская², В.М. Михайлов³

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» (г. Санкт-Петербург),

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» (г. Санкт-Петербург),

³ФГБУН Институт цитологии РАН (г. Санкт-Петербург)

The effect of a 10% solution of calcium chloride and its 6 and 12 centesimal homeopathic dilutions on the apoptosis activity of large decidual cells

V.A. Linde¹, A.M. Marzhevskaya², V.M. Mikhailov³

¹FGBOU VO First St. Petersburg State Medical University named after academician I.P. Pavlova (St. Petersburg, Russia),

²FGBOU VO Saint Petersburg State Medical University named after I.I. Mechnikov (St. Petersburg, Russia),

³FGBUN Institute of Cytology RAS (St. Petersburg, Russia)

РЕЗЮМЕ

Терминально дифференцированные большие децидуальные клетки гетерогенны по содержанию в них ДНК. Это является одним из признаков апоптоза. Активности апоптоза БДК по мере утяжеления течения преэклампсии возрастает. Известно также, что при наличии в среде ионов кальция количество погибших клеток больше, чем при культивировании клеток в среде, ионов кальция не содержащей. ДНК-цитометрический коэффициент вариации G1 пика является показателем количества клеток, находящихся на начальных этапах апоптоза. Выявлена чёткая зависимость степени изменения значения коэффициента вариации G1 пика при добавлении в среду 6-го и 12-го гомеопатических разведений 10 % раствора хлорида кальция от исходного уровня апоптоза в суспензии децидуальных клеток.

Ключевые слова: апоптоз, большие децидуальные клетки, ДНК-цитометрия, преэклампсия, гомеопатические разведения.

RESUME

Terminally differentiated large decidual cells are heterogeneous in their DNA expression. DNA expression is one of the signs of apoptosis. The activity of apoptosis of LDC increases as the course preeclampsia becomes heavier. It is also known that when calcium ions are present in the cells culture, the number of dead cells is greater than when cells culture does not contain calcium ions. The DNA cytometric coefficient of variation G1 peak is an indicator of the number of cells in the initial stages of apoptosis. We found a clear dependence of the degree of change in the value of the G1 peak coefficient of variation when adding 10 % calcium chloride solution to cells culture of the 6c and 12c homeopathic dilutions on the initial level of apoptosis in the suspension of decidual cells was revealed.

Keywords: apoptosis, large decidual cells, DNA cytometry, preeclampsia, homeopathic dilutions.

ВЕДЕНИЕ

Известно, что терминально дифференцированные большие децидуальные клетки (БДК) гетерогенны по содержанию в них ДНК [1]. Известно также, что это является одним из признаков того, что гибель данных клеток происходит по типу запрограммированной клеточной гибели или апоптоза [2, 3]. Апоптозу в последнее время придаётся большое значение в поддержании клеточного гомеостаза [4, 5, 6].

Доказано, в частности, значение апоптоза в атрофии эндометрия женщин в процессе менструального цикла [7]. Предыдущими нашими работами показано возрастание активности апоптоза БДК по мере утяжеления течения преэклампсии и возможность судить об уровне их апоптоза по данным ДНК-цитометрии [8].

При отработке методики ДНК-цитометрии клеток децидуальной оболочки нами было выявлено, что при наличии в среде ионов каль-

ция количество погибших клеток больше, чем при культивировании клеток в среде, ионов кальция не содержащей (раствор Версена). В связи с этим было решено изучить влияние 10 % раствора хлорида кальция и его 6- и 12-сотенных гомеопатических разведений на уровень апоптоза клеток децидуальной оболочки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были исследованы фрагменты децидуальной оболочки 55 родильниц от 19 до 35 лет. Средний возраст составил $25,8 \pm 1,3$ года. У 21 женщины беременность и роды протекали физиологически. У 23 пациенток беременность и роды осложнились лёгкой преэклампсией. У 11 пациенток была диагностирована тяжёлая преэклампсия. Все роды произошли в сроке от 38 до 41 недели беременности.

Децидуальную оболочку для исследования брали из трёх мест около плаценты и двух в области разрыва оболочек. Отделяли децидуальную оболочку от хориона механическим путем, полноту отделения контролировали гистологически. После механического измельчения кусочки ткани помещали в раствор Версена с добавлением коллагеназы (1 мг/мл, производство Тихоокеанского института биорганической химии АН РФ). Инкубацию проводили в термостате при температуре 37°C в течение 45 мин. После фильтрования через капроновые фильтры клеточную суспензию центрифугировали при 400 g 10 мин с последующим ресуспензированием в растворе Версена. Суспензия для опытов содержала от 500000 до 2000000 клеток на 1 мл.

В серии опытов с хлоридом кальция использовали 10 % раствор хлорида кальция (ампулированный препарат, применяемый для внутривенных инъекций). Из него же изготавливали 6- и 12-сотенные гомеопатические разведения. Для чего последовательно разводили в пропорции 1: 100 исходный и последующие растворы, встряхивая каждое вновь полученное разведение не менее 50 раз, как это принято в гомеопатии [9, 10]. В первом случае проводилось 6 последовательных разведений, во втором – 12. Для изготовления гомеопатических разведений использовали бидистиллированную воду.

Взвесь клеток децидуальной оболочки распределялась в 5 пробирок по 2 мл в каждую. Одна пробирка использовалась в качестве контроля. В оставшиеся 4 пробирки добавляли 40 микролитров одного из растворов: 10 % раствор хлорида кальция, 6-е сотенное разведение этого раствора, 12-е сотенное его разведе-

ние и чистая бидистеллированная вода. Затем все пробирки инкубировали при температуре 37°C в течение 30 мин.

Далее проводили ДНК-цитометрию по ранее описанным методикам [11, 12]. В результате математической обработки ДНК-гистограмм определяли коэффициент вариации G1 пика как показатель, отражающий степень гетерогенности клеточной популяции по содержанию ДНК в клетках с нормальным (диплоидным) набором хромосом и, следовательно, количество в исследуемой популяции клеток, находящихся на начальных этапах программированной клеточной гибели.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ полученных данных показал, что уровень апоптоза клеток децидуальной оболочки при введении в среду 10 % раствора хлорида кальция (20 мкл на 1 мл) резко возрастает. Несмотря на широкий диапазон значений коэффициента вариации G1 пика в данной группе опытов ($5,26 \pm 0,68$), исследуемый показатель в ней был статистически достоверно выше ($p < 0,009$), чем в контрольной группе ($3,53 \pm 0,23$).

При исследовании влияния гомеопатических разведений 10 % раствора хлорида кальция на активность программированной клеточной гибели в суспензии децидуальных клеток наименьшие значения коэффициента вариации G1 пика были выявлены при использовании 6-го сотенного разведения ($3,07 \pm 0,24$). При применении 12-го сотенного разведения 10 % раствора хлорида кальция уровень коэффициента вариации G1 пика был несколько выше ($3,17 \pm 0,19$). Однако статистически достоверной разницы между значениями исследуемого параметра в данных группах и в контрольной группе выявить не удалось. Мы предположили, что это может быть связано с ярко выраженной зависимостью степени снижения уровня апоптоза под воздействием гомеопатических разведений 10 % раствора хлорида кальция от исходного уровня апоптоза в суспензии децидуальных клеток, поскольку теоретически гомеопатические препараты должны нормализовать именно те процессы, которые вышли за пределы «коридора нормы».

Коэффициент корреляции между исходными значениями коэффициента вариации G1 пика и степенью его изменения при добавлении в среду 12-го сотенного разведения 10 % раствора хлорида кальция был равен $-0,741$. При сравнении же значений коэффициента вариации G1 пика в контрольной группе опытов

и группе опытов с 6-м сотенным разведением 10 % раствора хлорида кальция коэффициент корреляции между ними оказался равен -0,931. Это однозначно свидетельствует о зависимости степени изменения значения коэффициента вариации G1 пика при добавлении в среду гомеопатических разведений 10 % раствора хлорида кальция от исходного уровня апоптоза в суспензии децидуальных клеток. Косвенным подтверждением выявленной закономерности является высокая положительная коррелятивная связь между изменениями значений коэффициента вариации G1 пика в группах опытов с 6-м и 12-м сотенными разведениями 10 % раствора хлорида кальция. Коэффициент корреляции между ними равен 0,904.

Подобной закономерности при сравнении величин коэффициента вариации G1 пика в контрольной группе опытов и в группе опытов с 10 % раствором хлорида кальция выявлено не было. Коэффициент корреляции между изучаемыми параметрами в этих группах был равен 0,423, что говорит об отсутствии связи между исходным уровнем апоптоза и степенью его изменения под воздействием 10 % раствора хлорида кальция.

Необходимо отметить, что после добавления чистой бидистиллированной воды также отмечалось некоторое уменьшение значений коэффициента вариации G1 пика ($3,38 \pm 0,14$). Однако ни статистически достоверной разницы, ни каких-либо корреляционных связей со значениями коэффициента вариации G1 пика в контрольной группе опытов в группе опытов с чистой бидистиллированной водой выявить не удалось. Как не выявлено и корреляционных связей между значениями коэффициента вариации G1 пика в описываемой группе опытов и экспериментах с гомеопатическими разведениями 10 % раствора хлорида кальция.

ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Таким образом, обобщая полученные данные, мы можем отметить, что на выбранной нами модели подтверждается гомеопатический постулат об обратном действии на биологические системы стандартных химических и гомеопатических растворов исходных веществ. Что подтверждает знаменитое утверждение Парацельса: «Лекарство – яд, но яд – лекарство. Одна лишь доза превратит лекарство в яд и яд в лекарство...» [13]. И, в определённой степени, основное правило гомеопатии: подобное лечится подобным [14].

С другой стороны, данная модель наглядно продемонстрировала сложность отслеживания

результатов воздействия на биологические системы гомеопатических препаратов, в частности зависимость степени эффективности последних от исходных параметров объекта воздействия и правильности выбора гомеопатического разведения. Выраженная «индивидуализация» эффекта гомеопатических препаратов существенно осложняет построение дизайна исследования и математическую обработку полученных результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Синтез и содержание ДНК в клетках децидуа человека, находящихся на разных этапах дифференцировки, по данным проточной цитометрии / В.М. Михайлов, В.А. Линде, Ю.М. Розанов [и др.] // Цитология. – 1992. – №6. – С.67–73.
2. Bowen, I.D. Cell death in biology and pathology / I.D. Bowen, R.A. Lockshin. – New-York: Chapman and Hall, 1981. – 493 s.
3. Wyllie, A.H. Cell death; The significance of apoptosis / A.H. Wyllie, J.F.R. Kerr, A.B. Currie // Int. Rev. Cytol. – 1980. – Vol. 68. – P.251–306.
4. Kerr, J.F.R. Radiation Biology in Cancer Research / J.F.R. Kerr, J. Searle // New-York, 1980. – P.367–384.
5. Лушников, Е.Ф. Апоптоз клеток при лучевом патоморфозе опухолей / Е.Ф. Лушников // Арх. патологии. – Т. XLVIII, Вып. 3. – С.60–67.
6. Ямщиков, М.В. Гибель кардиомиоцитов и нарушение их структур в эмбриональном гистогенезе / М.В. Ямщиков // Арх. анатомии гистологии и эмбриологии. – 1985. – №3. – С.79–84.
7. Лушников, Е.Ф. Апоптоз клеток: морфология, биологическая роль, механизмы развития (обзор) / Е.Ф. Лушников, В.М. Загребин // Арх. патологии. – 1987. – Т. XLIX. – Вып. 2. – С.84–89.
8. Проточная ДНК-цитометрия терминально дифференцированных клеток человека / В.А. Линде, Ю.М. Розанов, Н.А. Татарова, В.М. Михайлов // Цитология. – 1991. – №9. – С.81–82.
9. Гранникова, Т.А. Краткий курс по гомеотерапии / Т.А. Гранникова. – Л.: Балтинвест, ЛГА, 1991. – 160 с.
10. Келер, Г. Гомеопатия / Г. Келер; пер. с нем. – М.: Медицина, 1989. – 592 с.
11. Taylor, W. An avaluation of DNA fluorochromes staining techniques and analysis from flow cytometry / W. Taylor, В.К. Milthorpe // J. Histochem. Cytochem. – V. 28. – P.1224–1232/
12. Розанов, Ю.М. Проточная цитометрия / Ю.М. Розанов // Методы культивирования клеток. – Л.: Наука. – 1988. – С.136–146.
13. Гартман, Ф. Жизнь Парацельса и сущность его учения / Ф. Гартман; пер. с англ. – М.: Новый Акрополь, 1997. – 288 с.
14. Ганеман С. Органон врачебного искусства, или основная теория гомеопатического лечения / С. Ганеман; пер. с нем. (5-ое издание) – СПб.: Аврора, 1993. – 144 с.

Адрес автора

Д.м.н. Линде В.А., профессор кафедры акушерства, гинекологии и репродуктологии vik-linde@yandex.ru