

## ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ ОКСИГЕНОТЕРАПИИ

Селедцов В.И.<sup>1</sup>, Доржиева А.Б.<sup>2</sup>, Селедцова Г.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,  
Новосибирск, Россия

**Резюме.** Известно, что ишемия и гипоксия в опухолевом микроокружении способствует опухолевой прогрессии. Дефицит кислорода сдвигает метаболизм раковых клеток от окислительного фосфорилирования к аэробному (эффект Варбурга) и анаэробному гликолизу. Этот измененный углеводный обмен характеризуется низкой энергетической эффективностью и чрезмерным использованием глюкозы. В условиях гипоксии в злокачественных клетках ослабевает антиоксидантная защита и, соответственно, повышается их чувствительность к прямому токсическому действию активных форм кислорода (АФК). На практике насыщение опухолей кислородом обычно достигается применением водорастворимого озона или гипербарической оксигенацией. АФК и свободные радикалы вызывают повышенную текучесть мембран (липопероксидация фосфолипидов), повреждают энергетическую функцию митохондрий и вызывают окислительное повреждение ДНК и РНК. Показано, что АФК, генерируемые в результате оксидативного взрыва, способны усиливать противоопухолевый эффект химиолучевой терапии. Показано, что АФК, продуцируемые иммунными клетками, способны прямо ингибировать опухолевый рост. Кроме того, АФК обеспечивают дополнительную иммуностимуляцию посредством индукции мутагенеза в опухоли и появления иммуногенных неоантигенов. АФК способны также усиливать противоопухолевую иммунную защиту за счет стимуляции продукции иммунными клетками интерферона- $\gamma$ , фактора некроза опухоли- $\alpha$ , IL-2 и IL-6. С другой стороны, АФК могут оказывать негативное влияние на противоопухолевый иммунитет. В частности, они могут: 1) способствовать накоплению регуляторных Т-клеток (Treg) и миелоидных супрессорных клеток в опухолевом микроокружении, 2) поддерживать функциональную активность альтернативно активированных (M2) макрофагов и (N2) нейтрофилов и 3) нарушать презентацию иммуногенных антигенов дендритными клетками. Так, было показано, что относительно низкие концентрации АФК способны поддерживать активацию, пролиферацию и дифференцировку Т-лимфоцитов, тогда как высокие концентрации АФК обладают обратным эффектом. Есть основания полагать, что максимально возможный клинический эффект оксигенотерапии может быть достигнут в случае ее одно-временного или последовательного комбинирования с иммунотерапевтическими вмешательствами.

### Адрес для переписки:

Селедцова Галина Викторовна  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
фундаментальной и клинической иммунологии»  
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.  
Тел.: 8 (913) 980-52-25.  
E-mail: galina-seledtsova@yandex.ru

### Address for correspondence:

Galina V. Seledtsova  
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology  
14 Yadrintsevskaya St  
Novosibirsk  
630099 Russian Federation  
Phone: +7 (913) 980-52-25.  
E-mail: galina-seledtsova@yandex.ru

### Образец цитирования:

В.И. Селедцов, А.Б. Доржиева, Г.В. Селедцова  
«Противоопухолевые и иммуномодулирующие эффекты  
оксигенотерапии» // Медицинская иммунология, 2023.  
Т. 25, № 6. С. 1319-1328.  
doi: 10.15789/1563-0625-AAI-2562

© Селедцов В.И. и соавт., 2023

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

### For citation:

V.I. Seledtsov, A.B. Dorzhieva, G.V. Seledtsova "Antitumor  
and immunomodulatory effects of oxygen therapy", *Medical  
Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2023,  
Vol. 25, no. 6, pp. 1319-1328.  
doi: 10.15789/1563-0625-AAI-2562

© Seledtsov V.I. et al., 2023

The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-AAI-2562

Таким образом, на основании представленных данных делается заключение, что:

- активные формы кислорода, индуцированные окислительным стрессом, могут повреждать опухолевые клетки, не оказывая при этом существенного влияния на нормальные клетки;
- кислородная терапия способна усиливать противоопухолевые эффекты химиолучевой терапии;
- кислородную терапию целесообразно сочетать с иммунотерапией для достижения максимального противоопухолевого эффекта с минимальными побочными эффектами.

**Ключевые слова:** опухоль, гипоксия, активные формы кислорода, окислительный стресс, химиолучевая терапия, иммунотерапия, гипербарическая оксигенация, ишемия-реперфузия, опухолевое микроокружение

## ANTITUMOR AND IMMUNOMODULATORY EFFECTS OF OXYGEN THERAPY

Seledtsov V.I.<sup>a</sup>, Dorzhieva A.B.<sup>b</sup>, Seledtsova G.V.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> B. Petrovsky Russian Research Center for Surgery, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

**Abstract.** It is well known that ischemia and hypoxia in the tumor microenvironment promote tumor progression. Oxygen deficiency in tumor microenvironment polarizes cancer cell metabolism from oxidative phosphorylation to the aerobic mode (Warburg effect) and anaerobic glycolysis. This altered carbohydrate metabolism is characterized by low energy efficiency and excessive glucose consumption. Under hypoxic conditions, the antioxidant protection of malignant cells becomes weaker, thus causing a sufficient increase of their susceptibility to direct toxic effects of reactive oxygen species (ROS). In clinical practice, oxygen saturation of tumors is usually achieved by using water-soluble ozone or hyperbaric oxygen. The ROS are shown to be produced by oxidative burst, thus being able to enhance antitumor effects of chemoradiotherapy. The immune cell-derived ROS were shown to directly inhibit tumor growth. In addition, ROS provide additional immune stimulation through the induction of mutagenesis in the tumor cells and production of immunogenic neoantigens. ROS may also enhance antitumor immune defense by inducing synthesis of interferon- $\gamma$ , tumor necrosis factor- $\alpha$ , IL-2 and IL-6 by immune cells. Moreover, ROS may exert a negative effect on antitumor immunity. In particular, they are able to: (I) favor the recruitment and accumulation of regulatory T cells (Treg) and myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) in the tumor microenvironment; (II) promote accumulation of alternatively activated (M2) macrophages and (N2) neutrophils, and, (III) impair presentation of immunogenic antigens (Ag) by dendritic cells. We suggest that the maximal clinical effect of oxygen therapy could be achieved in case of its simultaneous or sequential combination with immunotherapeutic interventions.

The authors conclude that:

- oxidative stress-induced reactive oxygen species may preferentially damage tumour cells without significantly affecting normal cells;
- oxygen therapy may potentiate anti-tumour effects of chemoradiotherapy;
- oxygen therapy could be effectively combined with immunotherapy to achieve maximal anticancer effects with minimal side effects.

**Keywords:** tumor, hypoxia, active oxygen radicals, oxidative stress, chemo-radiation therapy, immunotherapy, hyperbaric oxygenation, ischemia reperfusion, reactive oxygen species, tumor microenvironment

## Введение

Известно, что микроциркуляторные нарушения и опухолевое воспаление приводят к дефициту кислорода в опухолевом микроокружении (ОМО). В свою очередь, дефицит кислорода сдвигает метаболизм раковых клеток от окислительного фосфорилирования к аэробному (эффект Варбурга) и анаэробному гликолизу. В отсутствие кислорода пируват восстанавливается до лактата посредством анаэробного гликолиза, таким образом, обходя образование ацетил-кофермента

гает метаболизм раковых клеток от окислительного фосфорилирования к аэробному (эффект Варбурга) и анаэробному гликолизу. В отсутствие кислорода пируват восстанавливается до лактата посредством анаэробного гликолиза, таким образом, обходя образование ацетил-кофермента

А и его дальнейшее окисление по циклу Кребса до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  [28]. Этот измененный углеводный обмен характеризуется низкой энергетической эффективностью и чрезмерным использованием глюкозы [33]. Опухолевые клетки накапливают молочную кислоту, которая способствует клеточному ацидозу и в сочетании с гипоксией стимулирует транскрипцию протуморогенного фактора, индуцируемого гипоксией фактора 1А (HIF1A, hypoxia-inducing factor 1A), который, в свою очередь, индуцирует транскрипцию нескольких генов, кодирующих гликолитические ферменты (гексокиназа, альдолаза, фосфофруктокиназа и лактатдегидрогеназа), опосредующие адаптивные клеточные реакции на гипоксический стресс [35]. Кроме того, HIF1A активирует транскрипцию генов нескольких ангиогенных факторов, в частности фактора роста эндотелия сосудов (VEGF, vascular endothelial growth factor) и его рецептора (VEGFR) и, тем самым, стимулирует в опухоли аномальный рост сосудов. Эти сосуды не способны обеспечивать нормальной кровоснабжение опухолевой ткани, поэтому опухоль даже с высокой васкуляризацией содержит гипоксичные области [28].

Высокий уровень ишемии и гипоксии в опухоли способствует ее прогрессии и является неблагоприятным прогностическим фактором. Например, парциальное давление кислорода ( $\text{PO}_2$ ) в опухоли молочной железы составляет в среднем 10 мм рт. ст. (для сравнения в нормальной ткани молочной железы > 60 мм рт. ст.) [28, 49]. В целом гипоксия способствует отбору опухолевых клеток с повышенной анти-апоптотической устойчивостью [28].

Длительная гипоксия приводит к значительному снижению продукции антиоксидантов в опухолевых клетках. Снижение содержания антиоксидантов в клетках резко повышает чувствительность этих клеток к окислительному стрессу. Установлено, что индуцированный активными формами кислорода окислительный стресс подавляет злокачественный рост и повышает чувствительность опухоли к действию как химиолучевой терапии [44], так и иммунотерапевтического лечения [47]. Ниже мы обсудим механизмы противоопухолевых эффектов АФК и очертим нишу и перспективы использования кислородной терапии в комплексном лечении рака.

#### **Противоопухолевые цитотоксические свойства АФК**

АФК образуются преимущественно в митохондриях. Они включают в себя супероксид ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), перекись водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), гидроксильный радикал ( $\text{OH}^{\cdot-}$ ), синглетный кислород ( $^1\text{O}_2$ ),

альфа-кислород ( $\alpha\text{-O}$ ), а также активные формы азота такие, как оксид азота ( $\text{NO}^{\cdot}$ ), диоксид азота ( $\text{NO}_2^{\cdot}$ ), и пероксинитрит ( $\text{ONOO}^{\cdot-}$ ). АФК запускают цепи реакций, приводящих к повреждению ДНК и РНК, а также окислению белков и липидов (перекисное окисление липидов) [36, 51]. Важно отметить, что АФК образуются не только в патологических, но и нормальных условиях, являясь важными физиологическими продуктами нормальной жизнедеятельности клеток. Эти продукты усиливают активность Nrf2, который, в свою очередь, стимулирует транскрипцию генов, кодирующих ряд антиоксидантных ферментов таких, как супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатион-S-трансфераза, каталаза, гемоксигеназа-1, NADPH-хиноноксидоредуктаза, а также белки теплового шока [22, 28, 45]. Эти продукты защищают клетки от повреждающего действия АФК и свободных радикалов, превращая их в безвредные молекулы (например, воду).

Ишемию-реперфузию (ИР) или реоксигенационное повреждение ткани можно рассматривать как модельную систему окислительного стресса. ИР-повреждение возникает при восстановлении прерванного кровоснабжения ткани, например, при инфаркте миокарда, инсульте, дисфункции желудочно-кишечного тракта, синдроме системной воспалительной реакции и синдроме полиорганной дисфункции.

Внутриопухолевая гипоксия ослабляет антиоксидантную защиту опухолевых клеток [2, 25, 39, 43, 53] и тем самым значительно повышают чувствительность этих клеток к цитотоксическому действию АФК, образующихся в ответ на оксигенацию опухоли. АФК и свободные радикалы вызывают повышенную текучесть мембран (липопероксидация фосфолипидов), повреждают энергетическую функцию митохондрий и вызывают окислительное повреждение ДНК и РНК. Прямая реактогенность малонового диальдегида приводит к мутациям, сдвигающим в ДНК рамки считывания [10, 55]. Опосредованное АФК окисление белков вызывает образование межбелковых поперечных связей и фрагментацию белков. Таким образом, АФК способны индуцировать разнонаправленное повреждение клеточных структур, поэтому клетки не могут достичь абсолютной устойчивости к опосредованной АФК цитотоксичности. Чтобы вызывать гибель клеток, повреждения, вызванные АФК, должны достигать определенных пороговых уровней. В сравнении с нормальными клетками опухолевые клетки обладают более высокой метаболической и пролиферативной активностью, поэтому они должны легче (быстрее) достигать критических уровней

вызванных АФК повреждений. Действительно, в нескольких экспериментальных моделях было показано, что АФК могут разрушать опухолевые клетки, не оказывая, при этом, существенного влияния на нормальные клетки [11, 28, 45, 52]. Эти данные строго подтверждают тот факт, что в сравнении с нормальными клетками, опухолевые клетки гораздо более чувствительны к токсическому действию АФК. Нужно также иметь в виду, что нормальные клетки, как правило, лучше в сравнении с опухолевыми клетками снабжаются кислородом крови, и, вследствие чего, они постоянно поддерживают выработку антиоксидантных молекул, нейтрализующих АФК. Теоретически оксигенация опухоли должна приводить к ингибированию активности HIF-1 $\alpha$  в опухолевой ткани и, тем самым, снижать опухолевый неогенез и метастазирование. Действительно, в модели немелкоклеточного рака легкого было показано, что гипербарическая оксигенация (ГБО) подавляет активность HIF-1 $\alpha$  и тормозит опухолевую прогрессию [54].

#### **Оксигенация в традиционном лечении опухолевых заболеваний**

Озонотерапия и ГБО традиционно используются для лечения заболеваний, приводящих к тканевой ишемии. Озон ( $O_3$ ) представляет собой форму кислорода с тремя атомами и двумя неспаренными электронами. Растворимость озона в воде и плазме превышает в 10 раз водную растворимость кислорода. Перед использованием озонированный физиологический раствор обычно смешивают с кровью пациента [12]. Токсичность и клинические эффекты озона зависят главным образом от его концентрации и способа доставки в опухолевое микроокружение. Озонотерапия не применяется путем прямого вдыхания, поскольку озон значительно увеличивает сопротивление дыхательных путей без изменения эластичности легочной ткани, приводя к непроизвольному торможению вдоха и другим нарушениям функции легких [7]. Трансфузия насыщенной озоном крови может повышать оксигенацию опухоли без повышения артериального  $pO_2$ . Хотя озон непосредственно не контактирует с опухолевыми клетками, он оказывает противоопухолевое действие главным образом через вторичные мессенджеры (такие как  $O_2$ ,  $H_2O_2$  и 4-гидроксиноненаль) [11]. Поскольку озон является стимулятором трансмембранного потока  $O_2$ , озонотерапия также способствует увеличению внутриклеточного уровня  $O_2$  [29].

В качестве альтернативы, озонотерапия может применяться путем введения озонированной воды непосредственно в опухолевую зону *in situ*.

Показано, что такое введение может приводить к дозозависимой ингибции пролиферации и некрозу опухолевых клеток, существенно не затрагивая при этом жизнедеятельность нормальных клеток [27, 28]. В медицинской практике также используется ректальное введение озонированного раствора. Доставка кислорода может быть осуществлена через носовую полость. Возможны также варианты введения озонированного раствора в плевральную и брюшную полости. Мы предполагаем, что пероральный прием озонированной воды мог бы эффективно использоваться при лечении опухолей верхних отделов желудочно-кишечного тракта и рака печени. Однако мы не нашли опубликованных данных о пероральном использовании озона в практической онкологии. Важно то, что локальное введение озонированного раствора не несет рисков эмболизации кровеносных сосудов [5, 45].

ГБО заключается в введении чистого (100%) кислорода под повышенным давлением (в 1,5-3 раза выше нормального атмосферного давления). ГО повышает уровень  $O_2$  в плазме, улучшает гемоглобин-независимый перенос  $O_2$  в нормальные и опухолевые ткани [6, 16]. Было показано, что, как и озон, гипербарический  $O_2$  способен повреждать раковые клетки посредством АФК-зависимых механизмов [16]. ГБО способна: 1) снижать пролиферацию раковых клеток; 2) оказывать антиангиогенный эффект; 3) снижать агрессивность опухоли; 4) улучшать результативность радиохимиотерапии [1, 17, 30], а также сглаживать негативное влияние гипоксии на Т-клеточный иммунитет [19].

В принципе, ингаляции  $O_2$  (не  $O_3$ ), широко используемые в клинической практике, могли бы быть использованы для лечения разных форм рака. Теоретически, эффекты ингаляционного  $O_2$  должны быть аналогичны эффектам ГБО и опосредоваться через стимуляцию окислительного фосфорилирования и продукции АФК в митохондриях. Однако в открытой литературе нет данных, подтверждающих возможность эффективного противоопухолевого применения ингаляционного  $O_2$ .

Теоретически хорошо васкуляризированные участки опухоли должны быть относительно устойчивы к действию АФК за счет выработки антиоксидантов, инактивирующих АФК. В этой связи окклюзия крупных кровеносных опухолевых сосудов в сочетании с последующей оксигенотерапией представляется перспективным методом лечения. В таких случаях гипоксия, вызванная окклюзией сосудов, будет призвана снижать выработку антиоксидантов в опухолевых



клетках и, тем самым, повышать их чувствительность к последующему токсическому действию кислорода. Сходный подход мог бы быть использован при назначении препаратов-ингибиторов неоваскуляризации.

Цитотоксичность химиолучевой терапии в значительной степени связывают с усилением внутриклеточной продукции АФК и свободных радикалов. В гипоксических условиях опухолевые клетки могут быть в три раза более устойчивы к лучевой и химиотерапии в сравнении с опухолевыми клетками, находящимися в среде, насыщенной кислородом [11, 18, 20]. Очевидно, что искусственная оксигенация опухоли должна приводить к приросту уровня АФК в опухолевых клетках и, тем самым, усиливать цитотоксический эффект химиолучевой терапии. В этой связи важно отметить, что современная онкология допускает комбинированное применение оксигенации опухоли с различными вариантами химиолучевой терапии [10], основываясь в основном на неожиданных наблюдениях того, что оксигенотерапия способна снижать побочные интоксикационные эффекты химиотерапии, тем самым предоставляя дополнительные возможности для оптимизации (усиления) системного лечения [42].

#### **Оксигенация в иммунотерапевтическом лечении опухолевых заболеваний**

Гипоксия резко снижает иммунотерапевтические возможности лечения опухолевого заболевания. Показано, что гипоксия способствует накоплению в ОМО иммуносупрессорных миелоидных клеток (MDSCs, myeloid-derived suppressor cells) и регуляторных Т-клеток (Treg), ингибирует Т-клеточную активацию, а также снижает количество цитотоксических Т-клеток [13]. Поэтому представляется целесообразным кислородную терапию комбинировать с иммунотерапией для того, чтобы максимально эффективно противодействовать иммуносупрессивным эффектам гипоксии.

Согласно современным представлениям, опухоль посредством стимуляции воспаления и регенеративного иммунитета создает благоприятные условия для своего развития. Поэтому лечение запущенных форм рака должно в обязательном порядке включать в себя противовоспалительную терапию, направленную на «охлаждение» чрезмерно воспаленной опухоли. Показано, что АФК могут способствовать накоплению иммунных клеток в воспалительных очагах [26, 40]. С другой стороны, получены убедительные доказательства того, что АФК обладают противовоспалительными свойствами [30]. Противовоспалительные меха-

низмы действия АФК пока четко не определены. Возможно, они обусловлены способностью АФК: 1) улучшать кровообращение [5]; 2) ингибировать синтез простагландинов [32]; 3) стимулировать выработку антиоксидантов в иммунных клетках и 4) снижать ацидоз в ОМО [15, 45].

Показано, что АФК, продуцируемые иммунными клетками, способны прямо ингибировать прогрессирование опухоли [24]. АФК также могут усиливать противоопухолевую иммунную защиту за счет стимуляции продукции интерферона- $\gamma$ , фактора некроза опухоли- $\alpha$ , интерлейкина-2 (IL-2) и IL-6 [26, 28, 45], а также за счет усиления активности противоопухолевых Т-лимфоцитов и натуральных киллеров [28]. Кроме того, кислородная терапия может обеспечить дополнительную иммуностимуляцию посредством индукции мутагенеза в опухоли, который приводит к появлению новых иммуногенных неоантигенов. Следует, однако, иметь в виду, что АФК способны также негативно влиять на противоопухолевый иммунитет. В частности, окислительный стресс может: 1) способствовать накоплению регуляторных Т-клеток (Treg) и миелоидных супрессорных клеток в ОМО; 2) поддерживать функциональную активность альтернативно активированных (M2) макрофагов и (N2) нейтрофилов, поддерживающих опухолевый рост; а также 3) нарушать презентацию иммуногенных антигенов дендритными клетками [26].

Фактически доминирующее влияние АФК (положительное или отрицательное) на иммунитет, зависит от их дозы. Как было показано ранее [26, 50], относительно низкие концентрации АФК способны поддерживать активацию, пролиферацию и дифференцировку Т-лимфоцитов, тогда как высокие концентрации АФК обладают обратным эффектом. В частности, низкие уровни АФК в ОМО усиливают функциональную активность Th1- и Th17-клеток [3], в то время как высокие уровни АФК поддерживают жизнеспособность Th2-клеток [14]. Теоретически, для получения максимального противоопухолевого эффекта низкодозную оксигенотерапию следует сочетать с иммунотерапией, усиливающей кислородную иммуностимуляцию, а высокодозную оксигенотерапию следует дополнять иммунотерапией, снижающей кислородную иммуносупрессию. В принципе, уровень окислительного стресса можно регулировать антиоксидантами. В частности, было показано, что N-ацетилцистеин способен поддерживать жизнеспособность и функциональную активность лимфоцитов, инфильтрирующие опухоль (TIL) [38].

Ингибиторы иммунных контрольных точек обеспечили революционный прорыв в современной онкологии [34]. Имеются данные о синергетическом эффекте лекарственной активации митохондрий (и продукции АФК) и антительной ингибцией PD-1 на стимуляцию противоопухолевого Т-клеточного иммунитета [8]. В другом исследовании показана прямая корреляция между способностью опухолевых клеток потреблять кислород и их чувствительностью к функциональной блокаде PD-1 [37]. Эти данные позволяют предположить наличие противоопухолевого синергизма контролируемой оксигенотерапии не только с ингибированием иммуносупрессорных молекул, но и с другими иммунотерапевтическими вмешательствами (рис. 1). В целом эти вмешательства должны быть направлены на стимуляцию опосредованных Th1-клетками иммунных реакций, которые, в свою очередь, усиливают противоопухолевую активность N1-

гранулоцитов и M1-макрофагов, стимулируют цитотоксическую активность естественных киллерных клеток, а также создают необходимые условия для генерации цитотоксических Т-лимфоцитов [41]. В дополнение к этому, оксигенация ОМО может обеспечить энергетическую поддержку противоопухолевым иммунным механизмам за счет усиления выработки аденозинтрифосфата (АТФ) в иммунных клетках [40].

Гипертермия (или термотерапия) — это иммунотропный неинвазивный метод лечения рака, часто применяемый в сочетании с химиолучевой терапией. Гипертермия подразделяется на локальную, регионарную и общую (нагревание всего тела). Показана связь гипертермических реакций организма с продукцией АФК [21, 48]. Умеренная гипертермия (39–41 °C) вызывает термотолерантность — адаптивное состояние организма, характеризующееся повышенной устойчивостью к действию повышенных температур

#### КИСЛОРОДНАЯ ТЕРАПИЯ / OXYGEN THERAPY

+

#### ИММУНОТЕРАПИЯ / IMMUNOTHERAPY

Озонотерапия / Ozone therapy

Гиперпарическая оксигенация / Hyperbaric oxygenation

Кислородная ингаляция / Oxygen inhalation



Блокада иммуносупрессорных молекул  
Blockade of immunosuppressive molecules  
Медикаментозная иммуностимуляция  
Drug-mediated immunostimulation  
Адоптивная клеточная иммунотерапия  
Adoptive cellular immunotherapy  
Гипертермия / Hyperthermia

#### ПРЕДОТВРАЩЕНИЕ (ИЛИ ТОРМОЖЕНИЕ) ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ PREVENTION (OR INHIBITION) OF TUMOR PROGRESSION

Усиление внутриклеточной продукции АФК / Enhancement of intracellular ROS production  
Повышение чувствительности опухоли к цитотоксическим воздействиям / Increasing the sensitivity of the tumor to cytotoxic effects  
Снижение индуцируемого опухолью воспаления / Reducing tumor-induced inflammation  
Снижение лактатного ацидоза / Decreasing lactic acidosis  
Подавление опухолевой неоваскуляризации / Suppression of tumor neovascularization  
Стимуляция противоопухолевых иммунных реакций / Stimulation of antitumor immune responses

#### Рисунок 1. Комбинированная биологическая терапия опухолевых заболеваний

Примечание. Оксигенация опухоли в комбинации с иммунотерапевтическими воздействиями может быть использована для усиления выработки АФК и повышения чувствительности опухоли к цитотоксическим воздействиям, для подавления индуцируемого опухолью воспаления и снижения лактатного ацидоза, а также для торможения процессов неоваскуляризации и усиления противоопухолевых иммунных реакций. Подробное описание в тексте.

Figure 1. Schematic representation of a combined biological cancer therapy paradigm based on various forms of oxygen therapy and immunotherapy

Note. We maintain that such combination protocols would be safe and effective in down-regulating tumour-protective inflammation, lactate acidosis and neovascularisation, while on the other hand enhancing anti-tumour immunity, intracellular ROS production and tumour sensitivity to immunotherapy-induced cytotoxicity. See detailed explanation in the text.

Жесткая гипертермия (42 °C и выше) вызывает в клетках тепловой стресс, который стимулирует митохондриальную продукцию АФК и вызывает повреждение клеток [4]. Совместное применение оксигенотерапией и гипертермией может улучшать микроциркуляцию и, тем самым, облегчать доставку кислорода в ОМО. Теоретически, такая лечебная комбинация должна стимулировать миграцию иммунных клеток в ОМО, а также усиливать цитотоксическое действие химиотерапии. В соответствии с этим предположением было показано, что ГБО, совмещенная с гипертермией, может усиливать цитотоксические эффекты карбоплатины в мышинной модели карциномы SCCVII [31]. Кроме того, установлено, что повышенные температуры стимулируют иммунные реакции в ОМО, а также повышают общую иммунную реактивность. В частности, умеренная гипертермия способствует созреванию дендритных клеток и повышает Т-клеточную реактивность. Такая гипертермия также усиливает противоопухолевую активность НК-клеток [9, 42]. Комбинация гипертермии с ГБО оказалась эффективной в лечении распространенного рака желудка [23]. Важно то, что иммуностимулирующая гипертермия (39,5–40,5 °C) не имеет с серьезными побочными эффектами.

Из сказанного выше следует, что оксигенотерапия обладает высоким, пока еще до конца не-

использованным потенциалом в борьбе с раком. Наиболее перспективным представляется ее использование в сочетании с различными иммунотерапевтическими вмешательствами, включая гипертермию. Как очерчено на рисунке 1, различные биологические методы лечения могут мобилизовать разные противоопухолевые механизмы и их совместное действие может обеспечить достижения максимально возможного клинического эффекта с минимальными побочными эффектами.

## Заключение

Известно, что гипоксия способствует прогрессированию рака. Оксигенация опухоли приводит к окислительному стрессу и повышению уровней АФК в опухолевой ткани. В сравнении с нормальными клетками, опухолевые клетки намного более чувствительны к прямому цитотоксическому действию АФК. Установлено, что кислородная терапия способна повысить эффективность стандартной химиолучевой терапии. Мы предполагаем, что комбинирование оксигенотерапии с иммунотерапевтическими воздействиями позволит получить максимально возможный клинический эффект с минимальными побочными эффектами.

## Список литературы / References

1. Abdelhakim H., Shune L., Bhatti S., Cantilena A.R., Baran A., Lin T.L., Ganguly S., Singh A.K., Abhyankar S., Divine C., Lipe B., McGuirk J., Allin D., Aljitawi O.S. Results of the first clinical study in humans that combines hyperbaric oxygen pretreatment with autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2019, Vol. 25, no. 9, pp. 1713-1719.
2. Ahmed Amar S.A., Eryilmaz R., Demir H., Aykan S., Demir C. Determination of oxidative stress levels and some antioxidant enzyme activities in prostate cancer. *Aging Male*, 2019, Vol. 22, no. 3, pp. 198-206.
3. Abimannan T., Peroumal D., Parida J.R., Barik P.K., Padhan P., Devadas S. Oxidative stress modulates the cytokine response of differentiated Th17 and Th1 cells. *Free Radic. Biol. Med.*, 2016, Vol. 99, pp. 352-363.
4. Ba M.C., Long H., Wang S., Wu Y.B., Zhang B.H., Yan Z.F., Yu F.H., Cui S.Z. Hyperthermia enhances radiosensitivity of colorectal cancer cells through ROS inducing autophagic cell death. *J. Cell. Biochem.*, 2018, Vol. 119, no. 4, pp. 3763-3774.
5. Bocci V.A. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Arch. Med. Res.*, 2006, Vol. 37, no. 4, pp. 425-435.
6. Brizel D.M., Lin S., Johnson J.L., Brooks J., Dewhirst M.W., Piantadosi C.A. The mechanisms by which hyperbaric oxygen and carbogen improve tumour oxygenation. *Br. J. Cancer*, 1995, Vol. 72, no. 5, pp. 1120-1124.
7. Bromberg P.A. Mechanisms of the acute effects of inhaled ozone in humans. *Biochim. Biophys. Acta*, 2016, Vol. 1860, no. 12, pp. 2771-2781.
8. Chamoto K., Chowdhury P.S., Kumar A., Sonomura K., Matsuda F., Fagarasan S., Honjo T. Mitochondrial activation chemicals synergize with surface receptor PD-1 blockade for T cell-dependent antitumor activity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2017, Vol. 114, no. 5, pp. E761-E770.
9. Cheng Y., Weng S., Yu L., Zhu N., Yang M., Yuan Y. The role of hyperthermia in the multidisciplinary treatment of malignant tumors. *Integr. Cancer Ther.*, 2019, Vol. 18, 1534735419876345. doi: 10.1177/1534735419876345.

10. Clavo B., Rodríguez-Esparragón F., Rodríguez-Abreu D., Martínez-Sánchez G., Llontop P., Aguiar-Bujanda D., Fernández-Pérez L., Santana-Rodríguez N. Modulation of oxidative stress by ozone therapy in the prevention and treatment of chemotherapy-induced toxicity: review and prospects. *Antioxidants (Basel)*, 2019, Vol. 8, no. 12, 588. doi: 10.3390/antiox8120588.
11. Clavo B., Santana-Rodríguez N., Llontop P., Gutiérrez D., Suárez G., López L., Rovira G., Martínez-Sánchez G., González E., Jorge I.J., Perera C., Blanco J., Rodríguez-Esparragón F. Ozone therapy as adjuvant for cancer treatment: is further research warranted? *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, 2018, Vol. 2018, 7931849. doi: 10.1155/2018/7931849.
12. Clavo B., Pérez J.L., López L., Suárez G., Lloret M., Rodríguez V., Macías D., Santana M., Hernández M.A., Martín-Oliva R., Robaina F. Ozone therapy for tumor oxygenation: a pilot study. *Evid Based Complement Alternat Med.*, 2004, Vol. 1, no. 1, pp. 93-98.
13. Daniel S.K., Sullivan K.M., Labadie K.P., Pillarisetty V.G. Hypoxia as a barrier to immunotherapy in pancreatic adenocarcinoma. *Clin. Transl. Med.*, 2019, Vol. 8, no. 1, 10. doi: 10.1186/s40169-019-0226-9.
14. Frossi B., de Carli M., Piemonte M., Pucillo C. Oxidative microenvironment exerts an opposite regulatory effect on cytokine production by Th1 and Th2 cells. *Mol. Immunol.*, 2008, Vol. 45, no. 1, pp. 58-64. doi: 10.1016/j.molimm.2007.05.008.
15. Galiè M., Covi V., Tabaracci G., Malatesta M. The Role of Nrf2 in the antioxidant cellular response to medical ozone exposure. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 16, 4009. doi: 10.3390/ijms20164009.
16. Gill A.L., Bell C.N. Hyperbaric oxygen: its uses, mechanisms of action and outcomes. *QJM*, 2004, Vol. 97, no. 7, pp. 385-395.
17. Gore A., Muralidhar M., Espey M.G., Degenhardt K., Mantell L.L. Hyperoxia sensing: from molecular mechanisms to significance in disease. *J. Immunotoxicol.*, 2010, Vol. 7, no. 4, pp. 239-254.
18. Gray L.H., Conger A.D., Ebert M., Hornsey S., Scott O.C. The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. *Br. J. Radiol. Dec.*, 1953, Vol. 26, no. 312, pp. 638-648.
19. Hegde A., Jayaprakash P., Couillault C.A., Piha-Paul S., Karp D., Rodon J., Pant S., Fu S., Dumbrava E.E., Yap T.A., Subbiah V., Bhosale P., Coarfa C., Higgins J.P., Williams E.T., Wilson T.F., Lim J., Meric-Bernstam F., Sumner E., Zain H., Nguyen D., Nguyen L.M., Rajapakshe K., Curran M.A., Hong D.S. A phase I dose-Escalation study to evaluate the safety and tolerability of evofosfamide in combination with ipilimumab in advanced solid malignancies. *Clin. Cancer Res.*, 2021, Vol. 27, no. 11, pp. 3050-3060.
20. Horsman M.R., Vaupel P. Pathophysiological basis for the formation of the tumor microenvironment. *Front. Oncol.*, 2016, Vol. 6, 66. doi: 10.3389/fonc.2016.00066.
21. Hou C.H., Lin F.L., Hou S.M., Liu J.F. Hyperthermia induces apoptosis through endoplasmic reticulum and reactive oxygen species in human osteosarcoma cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 2014, Vol. 15, no. 10, pp. 17380-17395.
22. Inal M., Dokumacioglu A., Özcelik E., Ucar O. The effects of ozone therapy and coenzyme Q<sub>10</sub> combination on oxidative stress markers in healthy subjects. *Ir. J. Med. Sci.*, 2011, Vol. 180, no. 3, pp. 703-707.
23. Iyikesici M.S. Survival outcomes of metabolically supported chemotherapy combined with ketogenic diet, hyperthermia, and hyperbaric oxygen therapy in advanced gastric cancer. *Niger J. Clin. Pract.*, 2020, Vol. 23, no. 5, pp. 734-740.
24. Kalafati L., Kourtzelis I., Schulte-Schrepping J., Li X., Hatzioannou A., Grinenko T., Hagag E., Sinha A., Has C., Dietz S., de Jesus Domingues A.M., Nati M., Sormendi S., Neuwirth A., Chatzigeorgiou A., Ziogas A., Lesche M., Dahl A., Henry I., Subramanian P., Wielockx B., Murray P., Mirtschink P., Chung K.J., Schultze J.L., Netea M.G., Hajishengallis G., Verginis P., Mitroulis I., Chavakis T. Innate immune training of granulopoiesis promotes anti-tumor activity. *Cell*, 2020, Vol. 183, no. 3, pp. 771-785.e12.
25. Korenaga D., Takesue F., Kido K., Yasuda M., Inutsuka S., Honda M., Nagahama S. Impaired antioxidant defense system of colonic tissue and cancer development in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *J. Surg. Res.*, 2002, Vol. 102, no. 2, pp. 144-149.
26. Kotsafti A., Scarpa M., Castagliuolo I., Scarpa M. Reactive oxygen species and antitumor immunity-from surveillance to evasion. *Cancers (Basel)*, 2020, Vol. 12, no. 7, 1748. doi: 10.3390/cancers12071748.
27. Kuroda K., Azuma K., Mori T., Kawamoto K., Murahata Y., Tsuka T., Osaki T., Ito N., Imagawa T., Itoh F., Okamoto Y. The safety and anti-tumor effects of ozonated water *in vivo*. *Int. J. Mol. Sci.*, 2015, Vol. 16, no. 10, pp. 25108-25120.
28. Luongo M., Brigida A.L., Mascolo L., Gaudino G. Possible therapeutic effects of ozone mixture on hypoxia in tumor development. *Anticancer Res.*, 2017, Vol. 37, no. 2, pp. 425-435.
29. Madej P., Plewka A., Madej J.A., Nowak M., Plewka D., Franik G., Golka D. Ozonotherapy in an induced septic shock. I. Effect of ozonotherapy on rat organs in evaluation of free radical reactions and selected enzymatic systems. *Inflammation*, 2007, Vol. 30, no. 1-2, pp. 52-58.



30. Moen I., Stuhr L.E. Hyperbaric oxygen therapy and cancer – a review. *Target. Oncol.*, 2012, Vol. 7, no. 4, pp. 233-242.
31. Ohguri T., Kunugita N., Yahara K., Imada H., Uemura H., Shinya N., Youjirou G., Takashi C., Okazaki R., Ootsuyama A., Korogi Y. Efficacy of hyperbaric oxygen therapy combined with mild hyperthermia for improving the anti-tumour effects of carboplatin. *Int. J. Hyperthermia*, 2015, Vol. 31, no. 6, pp. 643-648.
32. Orakdogan M., Uslu S., Emon S.T., Somay H., Meric Z.C., Hakan T. The effect of ozone therapy on experimental vasospasm in the rat femoral artery. *Turk. Neurosurg.*, 2016, Vol. 26, no. 6, pp. 860-865.
33. Otto A.M. Warburg effect(s)-a biographical sketch of Otto Warburg and his impacts on tumor metabolism. *Cancer Metab.*, 2016, Vol. 4, 5. doi: 10.1186/s40170-016-0145-9.
34. Pan C., Liu H., Robins E., Song W., Liu D., Li Z., Zheng L. Next-generation immuno-oncology agents: current momentum shifts in cancer immunotherapy. *J. Hematol. Oncol.*, 2020, Vol. 13, no. 1, 29. doi: 10.1186/s13045-020-00862-w.
35. Payen V.L., Brisson L., Dewhirst M.W., Sonveaux P. Common responses of tumors and wounds to hypoxia. *Cancer J.*, 2015, Vol. 21, no. 2, pp. 75-87.
36. Pham-Huy L.A., He H., Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int. J. Biomed. Sci.*, 2008, Vol. 4, no. 2, pp. 89-96.
37. Scharping N.E., Menk A.V., Whetstone R.D., Zeng X., Delgoffe G.M. Efficacy of PD-1 blockade is potentiated by metformin-induced reduction of tumor hypoxia. *Cancer Immunol. Res.*, 2017, Vol. 5, no. 1, pp. 9-16.
38. Scheffel M.J., Scurti G., Simms P., Garrett-Mayer E., Mehrotra S., Nishimura M.I., Voelkel-Johnson C. Efficacy of adoptive T-cell therapy is improved by treatment with the antioxidant N-acetyl cysteine, which limits activation-induced T-cell death. *Cancer Res.*, 2016, Vol. 76, no. 20, pp. 6006-6016.
39. Shen Z.Y., Shen W.Y., Chen M.H., Shen J., Zeng Y. Reactive oxygen species and antioxidants in apoptosis of esophageal cancer cells induced by As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. *Int. J. Mol. Med.*, 2003, Vol. 11, no. 4, pp. 479-484.
40. Seledtsov V.I., von Delwig A. Clinically feasible and prospective immunotherapeutic interventions in multidirectional comprehensive treatment of cancer. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 2020, Vol. 21, no. 3, pp. 323-342.
41. Seledtsov V.I., Seledtsova G.V. A balance between tissue-destructive and tissue-protective immunities: a role of toll-like receptors in regulation of adaptive immunity. *Immunobiology*, 2012, Vol. 217, no. 4, pp. 430-435.
42. Skitzki J.J., Repasky E.A., Evans S.S. Hyperthermia as an immunotherapy strategy for cancer. *Curr. Opin. Investig. Drugs*, 2009, Vol. 10, no. 6, pp. 550-558.
43. Skrzycki M., Czczot H., Chrzanowska A., Otto-Ślusarczyk D. The level of superoxide dismutase expression in primary and metastatic colorectal cancer cells in hypoxia and tissue normoxia. *Pol. Merkur. Lekarski*, 2015, Vol. 39, no. 233, pp. 281-286. (In Polish)
44. Sosa V., Moliné T., Somoza R., Paciucci R., Kondoh H., LLeonart M.E. Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing Res. Rev.*, 2013, Vol. 12, no. 1, pp. 376-390.
45. Smith N.L., Wilson A.L., Gandhi J., Vatsia S., Khan S.A. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility. *Med. Gas Res.*, 2017, Vol. 7, no. 3, pp. 212-219.
46. Tchouagué M., Grondin M., Glory A., Averill-Bates D. Heat shock induces the cellular antioxidant defenses peroxiredoxin, glutathione and glucose 6-phosphate dehydrogenase through Nrf2. *Chem. Biol. Interact.*, 2019, Vol. 310, 108717. doi: 10.1016/j.cbi.2019.06.030.
47. Teppo H.R., Soini Y., Karihtala P. Reactive oxygen species-mediated mechanisms of action of targeted cancer therapy. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2017, Vol. 2017, 1485283. doi: 10.1155/2017/1485283.
48. Terasaki A., Kurokawa H., Ito H., Komatsu Y., Matano D., Terasaki M., Bando H., Hara H., Matsui H. Elevated production of mitochondrial reactive oxygen species via hyperthermia enhanced cytotoxic effect of doxorubicin in human breast cancer cell lines MDA-MB-453 and MCF-7. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 24, E9522. doi: 10.3390/ijms21249522.
49. Vaupel P., Mayer A., Höckel M. Tumor hypoxia and malignant progression. *Methods Enzymol.*, 2004, Vol. 381, pp. 335-354.
50. Weinberg S.E., Sena L.A., Chandel N.S. Mitochondria in the regulation of innate and adaptive immunity. *Immunity*, 2015, Vol. 42, no. 3, pp. 406-417.
51. Wu D., Yotnda P. Production and detection of reactive oxygen species (ROS) in cancers. *J. Vis. Exp.*, 2011, no. 57, 3357. doi: 10.3791/3357.
52. Yan J., Kloecker G., Fleming C., Bousamra M. 2<sup>nd</sup>, Hansen R., Hu X., Ding C., Cai Y., Xiang D., Donniger H., Eaton J.W., Clark G.J. Human polymorphonuclear neutrophils specifically recognize and kill cancerous cells. *Oncoimmunology*, 2014, Vol. 3, no. 7, e950163. doi: 10.4161/15384101.2014.950163.
53. Yigitbasi O.G., Guney E., Haghighi N., Dogan P., Saraymen R., Balkanli S. Oxidant and antioxidant status in larynx squamous cell carcinomas. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2000, Vol. 19, no. 4, pp. 447-451.

54. Zhang L., Ke J., Min S., Wu N., Liu F., Qu Z., Li W., Wang H., Qian Z., Wang X. Hyperbaric oxygen therapy represses the Warburg effect and epithelial-mesenchymal transition in hypoxic NSCLC cells *via* the HIF-1 $\alpha$ /PFKP axis. *Front. Oncol.*, 2021, Vol. 11, 691762. doi: 10.3389/fonc.2021.691762.
55. Zuo L., Prather E.R., Stetskiv M., Garrison D.E., Meade J.R., Peace T.I., Zhou T. Inflammation and oxidative stress in human diseases: from molecular mechanisms to novel treatments. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 18, 4472. doi: 10.3390/ijms20184472.

---

**Авторы:**

**Селедцов В.И.** — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

**Доржиева А.Б.** — аспирант ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия

**Селедцова Г.В.** — д.м.н., главный научный сотрудник ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия

---

**Authors:**

**Seledtsov V.I.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, B. Petrovsky Russian Research Center for Surgery, Moscow, Russian Federation

**Dorzhieva A.B.**, Postgraduate Student, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

**Seledtsova G.V.**, PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

---

Поступила 01.08.2022

Отправлена на доработку 14.08.2022

Принята к печати 04.04.2023

---

Received 01.08.2022

Revision received 14.08.2022

Accepted 04.04.2023