

PHARMACOLOGICAL EFFECT OF ACEGLUMAT DEANOL
AT ISCHEMIC DAMAGE OF MYOCARD

YE.D GOGINA, D.S. BLINOV, N.M. FILATOVA, YE.V. BLINOVA,
G.G. BOYKO, L.V. PIVKINA, T.V. KRASILINA, M.V. VERTYANKIN,
O.M. TUMUTOLOVA

Mordovian State University after N.P. Ogarev

The article highlights the experiences on rats with myocardial infarction, in which 10-day course introduction of deanol aceglumat 150 mg/kg per day, its effect on the size of necrosis zone and proportions of necrosis zone and ischemic one under assessment.

Key words: ethoxydol, anti-ischemic effect, zones of ischemia and necrosis, catecholamines, free radical lipid oxidation.

УДК 616.155.392.8-03: 616-091.818

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНДУКТОРА АПОПТОЗА sFAS-L ДЛЯ КОНТРОЛЯ
ЗА ТЕРАПИЕЙ И ИСХОДАМИ ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОЛЕЙКОЗА

Е.Г. ОВСЯННИКОВА, Э.Б. НАКСТХОЕВА, Л.В. ЗАКЛЯКОВА,
Б.Н. ЛЕВИТАН*

Статья посвящена проблемам лечения хронического миелолейкоза, связанным с малочувствительностью к гливекосу у некоторой части больных, что определяет необходимость поиска дополнительных маркеров прогноза. В качестве такого маркера предлагается использовать индуктор апоптоза - sFAS-L.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, гливек (иматиниб), sFas-L.

До настоящего времени *хронический миелолейкоз* (ХМЛ) был фатальным заболеванием с неминуемым прогрессированием болезни и низкой выживаемостью. Только трансплантация костного мозга позволяла достичь относительно длительной ремиссии у 18-20% больных в хронической фазе ХМЛ [8]. Главным патогенетическим событием, приводящим к развитию ХМЛ, является генетическая аномалия, возникающая в плюрипотентной гемопоэтической стволовой клетке. ХМЛ – первый из описанных лейкозов и первое онкологическое заболевание, при котором у человека обнаружен специфический хромосомный маркер – так называемая, филадельфийская или Ph-хромосома [2].

Расшифровка молекулярно-генетических механизмов ХМЛ дала ключ к пониманию, что лишь медикаментозная элиминация Ph-позитивного клона и восстановление нормального Ph-негативного гемопоэза могут привести к длительной ремиссии и увеличению выживаемости больных [2]. В. Druker (США) был создан препарат STI 571 (Signal Transduction Inhibitor), получивший название иматиниб (imatinib) или гливек. Гливек превосходит по эффективности все когда-либо применявшиеся средства терапии ХМЛ: при лечении гливексом большинство больных ХМЛ имеют шанс прожить 10 лет, в то время как при лечении миелосаном и гидроксимочевинной до этого срока доживали лишь 1-5% больных, а при лечении интерфероном – не более половины. Однако часть больных ХМЛ оказывается мало чувствительной к гливексу с самого начала лечения, у другой части снижение чувствительности появляется спустя некоторое время [3,7]. Это определяет необходимость поиска дополнительных маркеров прогноза и ожидаемого эффекта от терапии.

В последние десятилетия стало очевидным, что возможности опухолевого роста во многом связаны с опосредованными генетическими изменениями активности цитоплазматических, внутриклеточных и внутриядерных белков-регуляторов апоптоза. У большинства исследователей не вызывает сомнений, что прогнозирование опухолевой прогрессии и изучение чувствительности опухолевых клонов к цитостатическому воздействию во многом зависит от глубинных сдвигов в регуляции клеточного цикла и апоптоза, происходящих в опухолевой клетке [6].

Одним из внешних факторов, запускающих в клетке апоптоз, является Fas-лиганд (Fas-L), составляющий Fas-систему вместе со своим рецептором – Fas/APO-1/CD95 [1]. Изучение роли индуктора апоптоза – Fas-L при опухолевой прогрессии и прогрессии гемобластозов, в частности хронического миелолейкоза – перспективное направление в экспериментальной и клинической медицине [4,5], которое позволит, осуществлять эффективную диагностику и лечение заболеваний, ассоциированных с наруше-

нием механизмов индукции и развития апоптоза.

Цель исследования – изучить концентрацию индуктора апоптоза sFAS-L в сыворотке крови у больных хроническим миелолейкозом, получающих лечение гливексом.

Материалы и методы исследования. Исследование проспективное, продольное. Работа выполнена на основе собственных наблюдений в период с 2006 по 2011 гг. В исследование включены 53 больных ХМЛ. Возраст больных колебался от 23 до 78 лет. Средний возраст больных составлял 52,1±1,72 лет. Длительность лечения гливексом варьировала от 1 года до 5 лет. Продолжительность заболевания до начала терапии гливексом была от 0 до 87 месяцев.

Все больные ХМЛ имели клинко-морфологическое и цитогенетическое подтверждение диагноза хронического миелолейкоза. Диагноз, распределение по фазам заболевания и характер ответа на лечение определялся согласно критериям Европейского общества по изучению хронического миелолейкоза European Leukemia Net (ELN-2009) [9].

Критерии включения больных в исследование: хроническая фаза хронического миелолейкоза, терапия гливексом в течение 24 и более месяцев. Критерии исключения из исследования: пациенты, не получающие гливек; пациенты, получающие гливек менее 24 месяцев; пациенты в стадии акселерации и бластного криза; пациенты с сопутствующей патологией, при которой может повышаться концентрация маркера апоптоза sFasL: ревматоидный артрит, токсический эпидермальный некролиз, онкозаболевания, множественная миелома, неходжкинская лимфома, печеночная дисфункция, почечная недостаточность.

Статистическая обработка данных проводилась при помощи статистической программы STATISTICA 7. Для каждого показателя и групп наблюдения вычисляли среднее значение, ошибку средней арифметической. Учитывая небольшой объем наблюдений, при статистических расчетах использовались формулы для малых групп. Был использован непараметрический метод статистической обработки – критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05.

В процессе работы проводились молекулярно-генетические исследования крови методом ПЦР в реальном времени (количественная оценка экспрессии химерного гена BCR-ABL типа p210); исследования костного мозга: цитологические (миелограмма), цитохимические, цитогенетические (определение транслокации t(9;22) (q34;q11), молекулярно-цитогенетические (*флуоресцентная in situ* гибридизация хромосом (FISH) с ДНК зондом к слитному гену BCR-ABL).

Количественное определение sFAS-L в сыворотке крови проводилось иммуноферментным методом. Были использованы тест-системы фирмы Bender MedSystems (Австрия). Чувствительность тест-системы для определения концентрации sFAS-L 0,07 нг/мл.

В контрольную группу были включены 30 здоровых доноров, жителей Астраханской области. По половому признаку и возрасту группа сопоставима с исследуемой группой больных ХМЛ. В контрольной группе концентрация sFas-L составила 0,11±0,03 нг/мл. Значение sFas-L у здоровых доноров (мужчин и женщин) согласно аннотации к используемому нами маркеру варьирует от 0 до 1,09 нг/мл.

Результаты и их обсуждение. Нами определена концентрация sFas-L у 53 больных ХМЛ, начиная с 18 месяцев терапии, затем в динамике каждые полгода – 24, 30, 36 месяцев лечения гливексом. Первичная точка обследования в нашей работе – 18 месяцев терапии гливексом взята в связи с тем, что, согласно критериям ELN-2009 г.[9], это тот срок, когда проводится окончательная клиническая оценка ответа на терапию гливексом. Следуя критериям ELN-2009 г.[9] *полный цитогенетический ответ* (ПЦО) мы констатировали, когда отсутствовали клетки с Ph-хромосомой; *полный молекулярный ответ* (ПМО) – когда транскрипт BCR-ABL/ABL не выявлялся; *большой молекулярный ответ* (БМО) регистрировали при снижении BCR-ABL/ABL <0,1 %, по *международной шкале* (IS). Оптимальный ответ на терапию регистрировался у больных достигших ПЦО через 12 месяцев и БМО через 18 месяцев лечения.

Наибольший интерес для нас представляет контрольная точка лечения – 18 месяцев терапии, так как согласно критериям ответа на лечение ELN-2009 г., именно срок 18 месяцев является решающим: к этому времени больной с оптимальным ответом на

* ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121

терапию гливеком должен достичь большого молекулярного ответа. Поэтому мы сравнили концентрацию sFas-L через 18 месяцев терапии гливеком у больных с оптимальным ответом и с неудачей терапии. Данные отображены в табл. 1.

Таблица 1

Концентрация sFas-L у больных ХМЛ в зависимости от ответа на лечение через 18 месяцев терапии гливеком

Показатель	Контрольная группа (n = 30)	Больные ХМЛ (n = 53)	
		Оптимальный ответ (n = 20)	Неудача терапии (n = 33)
Концентрация sFas-L (нг/мл)	0,11±0,01	0,45±0,03 p<0,05	0,16±0,07 p<0,05

Примечание: p – достоверность различия показателей по сравнению с контрольной группой

Как представлено в табл. 1, концентрация sFas-L у больных с оптимальным ответом составила 0,45±0,03 нг/мл, у больных с неудачей терапии 0,16±0,07 нг/мл. Данные статистически значимы, по сравнению с контролем, в группе больных ХМЛ с оптимальным ответом. Достоверных различий, по сравнению с контрольной группой, концентрации sFas-L в группе с неудачей терапии на срок 18 месяцев лечения не выявлено. При сравнении между собой группы оптимального ответа и неудачи терапии, выявлено, что у больных с оптимальным ответом концентрация sFas-L в 3 раза выше, чем у больных с неудачей терапии (p<0,05). Вероятнее всего, это связано с увеличением дозы гливека именно в этот период (69% больных ХМЛ стали получать гливек в дозе 600 мг, в срок 6 месяцев получили 18% больных). Полученный нами результат указывает на важность мониторинга терапии в строго определенные сроки. Особое значение, согласно критериям ELN-2009 г., отводится 18 месяцам терапии, как «конечной» точке оценки клинического эффекта лечения гливеком. Срок 18 месяцев является переломным моментом и определяет дальнейший сценарий ответа на терапию, если в данный период не удастся достичь полного цитогенетического и молекулярного ответа – это весомый повод для пересмотра терапии.

Согласно критериям ELN-2009 г., после 18 месяцев клинический ответ на терапию более не оценивается. На поздних сроках рассматриваются молекулярный и цитогенетический ответы. В связи с этим, мы распределили группы по степени цитогенетического и молекулярного ответов. Полученные данные представлены в табл. 2.

Таблица 2

Концентрация sFas-L у больных ХМЛ в зависимости от цитогенетического и молекулярного ответов через 24 месяца лечения гливеком

Показатель	Контрольная группа (n = 30)	Больные ХМЛ			
		ПЦО (n = 28)	нет ПЦО (n = 25)	ПМО/БМО (n = 31)	Нет ПМО (n = 22)
Концентрация sFas-L в сыворотке крови (нг/мл)	0,11±0,01	0,12±0,01 p>0,05	0,19±0,01 p<0,05 p1<0,05	0,14±0,01 p>0,05	0,2±0,02 p<0,05 p2<0,05

Примечание: p – достоверность различия показателей по сравнению контрольной группой; p1 – достоверность различия показателей по сравнению с группой ПЦО; p2 – достоверность различия показателей по сравнению с группой ПМО/БМО

Как представлено в табл. 2, у больных, достигших полного цитогенетического ответа, концентрация sFas-L составила 0,12±0,01 нг/мл и не имела статистической значимости. В группе больных с отсутствием цитогенетического ответа концентрация sFas-L значимо превышает значения как в контрольной группе, так и в группе полного цитогенетического ответа и достигает 0,19±0,01 нг/мл. Аналогичная закономерность прослеживается и при сравнении значений концентрации sFas-L в зависимости от молекулярного ответа: у больных, достигших большого или полного молекулярного ответа, концентрация sFas-L составила 0,14±0,01 нг/мл и достоверно не отличается от контроля. У больных, не достигших большого или полного молекулярного ответа концентрация sFas-L - 0,2±0,02 нг/мл, что достоверно выше значений в контрольной группе и в группе больных с достижением молекулярных ответов. Повышение концентрации sFas-L указывает на активацию внешнего звена апоптоза – через поверхностные рецепторы, так называемого, региона «клеточной смерти» при отсутствии ответа на лечение гливеком. Чтобы проследить

изменяется ли полученная нами закономерность в более поздние сроки лечения, мы проанализировали концентрацию sFas-L у больных ХМЛ, получающих гливек 30 месяцев (табл. 3).

Таблица 3

Средние значения концентрации sFas-L у больных ХМЛ в зависимости от цитогенетического и молекулярного ответов на 30 месяцев лечения гливеком

Показатель	Контрольная группа (n = 30)	Больные ХМЛ			
		ПЦО (n = 29)	нет ПЦО (n = 24)	ПМО/БМО (n = 33)	Нет ПМО (n = 20)
Концентрация sFas-L в сыворотке крови (нг/мл)	0,11±0,01	0,18±0,01 p<0,05	0,12±0,01 p>0,05 p1<0,05	0,21±0,01 p<0,05	0,12±0,01 p>0,05 p2<0,05

Примечание: p – достоверность различия показателей по сравнению с контрольной группой; p1 – достоверность различия показателей по сравнению с группой ПЦО; p2 – достоверность различия показателей по сравнению с группой ПМО/БМО

Как представлено в табл. 3, у больных, достигших полного цитогенетического ответа, концентрация sFas-L составила 0,18±0,01 нг/мл, что статистически значимо по сравнению с контрольной группой. В группе больных с отсутствием цитогенетического ответа концентрация sFas-L составляет 0,12±0,01 нг/мл, что не превышает значений в контрольной группе и достоверно ниже по сравнению с группой полного цитогенетического ответа. При анализе молекулярного ответа имеются однотипные результаты: у больных, достигших большого или полного молекулярного ответов, концентрация sFas-L составила 0,21±0,01 нг/мл, что достоверно отличается от контроля. У больных, не достигших большого или полного молекулярного ответов концентрация sFas-L - 0,12±0,02 нг/мл, что достоверно не выше значений в контрольной группе и группе больных с достижением молекулярных ответов. У больных с отсутствием ПЦО и ПМО/БМО концентрации sFas-L имеет тенденцию к снижению. Полученные данные указывают на возможное истощение механизмов апоптоза. Чтобы подтвердить или опровергнуть это предположение мы проанализировали концентрацию sFas-L еще в более поздние сроки лечения - 36 месяцев терапии (табл. 4).

Таблица 4

Концентрация sFas-L у больных ХМЛ в зависимости от цитогенетического и молекулярного ответов на 36 месяцев лечения гливеком

Показатель	Группа контроль (n = 30)	Больные ХМЛ			
		ПЦО (n = 32)	нет ПЦО (n = 21)	ПМО/БМО (n = 35)	Нет ПМО (n = 18)
Концентрация sFas-L в сыворотке крови (нг/мл)	0,11±0,01	0,19±0,01 p<0,05	0,10±0,01 p>0,05 p1>0,05	0,2±0,01 p<0,05	0,10±0,01 p>0,05 p2>0,05

Примечание: p – достоверность различия показателей по сравнению с контрольной группой; p1 – достоверность различия показателей по сравнению с группой ПЦО; p2 – достоверность различия показателей по сравнению с группой ПМО/БМО

Из данной таблицы следует, что у больных, достигших полного цитогенетического ответа через 36 месяцев терапии гливеком концентрация sFas-L составила 0,19±0,01 нг/мл, что статистически значимо по сравнению с контрольной группой. В группе больных с отсутствием цитогенетического ответа концентрация sFas-L не превышает значения концентрации, как в контрольной группе, так и в группе полного цитогенетического ответа и составляет 0,10±0,01 нг/мл. Абсолютно полное совпадение тенденции величины концентрации sFas-L мы видим при анализе молекулярного ответа. У больных, достигших большого или полного молекулярного ответов, концентрация sFas-L составила 0,2±0,01 нг/мл, что достоверно отличается от контроля. У больных, не достигших большого или полного молекулярного ответов, концентрация sFas-L - 0,10±0,01 нг/мл, что достоверно ниже значений в контрольной группе и группе больных с достижением молекулярных ответов.

Концентрации sFas-L у больных с отсутствием цитогенетического и молекулярного ответов снижается по сравнению с группой больных, достигших полного цитогенетического или молекулярного ответов. Полученные данные требуют дальнейшего анализа для понимания динамики изменения концентрации sFas-L у больных ХМЛ с различным ответом на терапию гливе-

ком. Представленные изменения еще раз подчеркивают необходимость четкого выполнения контрольных исследований генетического и молекулярного статуса у больных ХМЛ, так как в данном случае важна не только степень, но и сроки (скорость) достижения этих ответов.

Выводы. Концентрация sFas-L у больных ХМЛ с полным цитогенетическим ответом на поздних сроках лечения – более 24 месяцев лечения гливеком выше значений в контрольной группе, что указывает на элиминацию опухолевого клона и индукцию процессов апоптоза. У больных, не достигших цитогенетической и молекулярной ремиссии через 30 и 36 месяцев терапии гливеком, концентрация sFas-L стабильно снижается, что говорит об истощении системы апоптоза, прогрессировании заболевания. Исследование концентрации индуктора апоптоза sFas-L может служить дополнительным методом оценки исходов терапии хронического миелолейкоза.

Литература

1. Владимирская, Е.Б. Механизмы апоптотической смерти клеток /Е.Б. Владимирская// Гематология и трансфузиология.– 2002.– Т. 47.– № 2.– С. 35–40.
2. Клиническая онкогематология: Руководство для врачей / Под ред. М.А. Волковой.– М.: Медицина.– 2001.– 576 с.
3. Отдаленные результаты выживаемости больных в поздней хронической фазе Ph+ хронического миелолейкоза при лечении иматиниб мезилатом (Гливек®) / О.В. Стахина [и др.] // Вестник гематологии.– 2009.– Т.5.– №2.– С. 42.
4. Петухов, В.Е. Роль Fas-опосредованного апоптоза в реализации противоопухолевого эффекта α -интерферона при хроническом миелолейкозе / В.Е. Петухов// Гематология и трансфузиология.– 2000.– Т. 45.– № 4.– С. 29–33.
5. Исследование экспрессии антигена CD95 (Fas/APO-1), опосредующего апоптоз, с помощью моноклональных антител ICO-160 при гемобластозах / Е.Р. Полосухина [и др.]// Гематология и трансфузиология.– 2000.– Т. 45.– № 4.– С. 3–6.
6. Райхлин, Н.Т. Регуляция и проявления апоптоза в физиологических условиях и в опухолях / Н.Т. Райхлин, А.Н. Райхлин// Вопросы онкологии.– 2002.– Т. 48.– № 2.– С. 159–171
7. Результаты многоцентрового исследования терапии гливеком больных хроническим миелолейкозом в хронической фазе/ Зарицкий А.Ю. [и др.]//Гематология и трансфузиология.–2007.– Т.52.– № 2.– С. 13–17.
8. Хронический миелолейкоз – до и после применения иматиниба (часть I) / Е.Г. Ломаина, [и др.]// Онкогематология.– 2009.– №2.– С. 4–16.
9. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. J Clin Oncol / M. Baccarani [et al.]//2009;27(35):6041–51.

THE APPLICATION OF APOPTOSIS INDUCTOR SFAS-L IN CONTROLLING THE COURSE OF THERAPY AND OUTCOMES OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

YE.G. OVSYANNIKOVA, E.B. NAKSTKHOEVA, L.V. ZAKLYAKOVA, B.N. LEVITAN

Astrakhan State Medical Academy, Chair of Faculty Therapy and Professional Diseases with the Course of Postgraduate Education

The article considers the problems of chronic myeloid leukemia connected with some patients' little sensitivity to glivec, which determines the necessity of searching for additional markers of prognosis. Therefore apoptosis inductor sFAS-L is offered as such a marker.

Key words: chronic myeloid leukemia, glivec (imatinib), apoptosis inductor sFAS-L.

УДК 612.662.9

ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДОВ РЕАБИЛИТАЦИИ ДИСФУНКЦИЙ У ЖЕНЩИН КЛИМАКТЕРИЧЕСКОГО ПЕРИОДА С ПРИМЕНЕНИЕМ ФАКТОРНОГО АНАЛИЗА

Е.Е. АТЛАС*, Ю.Р. ПОПОВА**

Настоящая статья посвящена вопросам эффективности применения солей янтарной кислоты у женщин климактерического периода на

фоне изменения параметров выраженности клинического синдрома-комплекса.

Ключевые слова: реабилитация дисфункций, женщины, климактерический период.

Одной из важных проблем геронтологии является климактерический период – естественный биологический процесс перехода женщины от активного и продуктивного репродуктивного периода старости. У 75-80% женщин приливы сопровождаются сердцебиением, повышением артериального давления и сохраняются от одного года до семи лет. По данным исследования WHI, приливы различной степени выраженности испытывают 60% женщин в возрасте 50-54 лет, из них 23% приливы средней и сильной степени выраженности. У многих женщин увеличивается масса тела, причем накопление жировых отложений происходит преимущественно в подкожно жировой клетчатке брюшной стенки, а так же повышается уровень сахара в крови, формируется инсулинорезистентность и метаболический синдром. Также наблюдаются изменения сердечно-сосудистой системы на фоне возрастных нарушений метаболизма.

Не смотря на множество публикаций, посвященной этой теме, эта проблема остается актуальной, т.к. не достаточно изучено влияние солей янтарной кислоты на обмен свободных жирных кислот, параметры метаболического синдрома и кардиоинтервалографии, а так же на когнитивные функции у женщин климактерического периода.

Цель исследования – выявление реабилитационные возможности янтарной кислоты и обосновать ее применение у женщин климактерического периода.

Материалы и методы исследования. Предметом изучения данной работы были женщины с проявлением метаболического синдрома в возрасте 40-60 лет с верифицированным диагнозом климактерический синдром, 85% были включены в исследования в связи с их желанием применять лечение климактерических расстройств преимущественно не гормональные средства.

Длительность климактерических проявлений у пациенток с климактерическим синдромом (КС) варьировало от шести месяцев до двух с половиной лет. Основная группа 68 человек. В основной группе для коррекции симптомов климактерического синдрома проводили монотерапию. солями янтарной кислоты в течение 20 дней по 2 капсулы два раза в день. В то время как женщины контрольной группы 36 человек лечились стандартными методами: климадиноном, физиотерапия, лечебно-физическая культура, статины, сиофор, диетотерапия. Пациентам проводились общеклинические, лабораторные и инструментальные исследования. Особое внимание уделялось нейропсихическому и психологическому обследованию пациенток.

Для оценки эффективности проводимых реабилитационных мероприятий был успешно применен факторный анализ. Закономерности формирования функциональной системы удобно изучать с применением метода корреляционного факторного анализа, который основан на вращении в n-мерном пространстве матрицы корреляций между всеми изучаемыми параметрами. Выделение отдельных факторов с вычислением их процентного вклада в дисперсию позволяет определить функциональные взаимосвязи между изучаемыми параметрами. Удельный вес показателей, входящих в каждый фактор, указывает на роль тех или иных элементов в формировании факторной структуры функциональной системы. В данной работе проводился корреляционный факторный анализ по методу «Варимакс».

Результаты и их обсуждение. Опираясь на основные положения теории функциональных систем, необходимо рассматривать всякий процесс в организме не как автономно протекающие изменения отдельных физиологических параметров и функций, а как взаимообусловленную интеграцию различных функциональных компонентов. Это положение делает обоснованным использование факторного анализа построения факторной структуры симптомокомплексов у женщин с климактерического периода до и после лечения. Динамика изменений факторной структуры дает возможность оценить эффективность проводимой терапии.

Выделение отдельных факторов с вычислением их процентного вклада в дисперсию позволяет определить функциональные взаимосвязи между изучаемыми параметрами. Удельный вес показателей, входящих в каждый фактор, указывает на роль тех или иных элементов в формировании факторной структуры функциональной системы.

В выделенной нами функциональной системе в результате

* Тульский государственный университет, 300012, г. Тула, пр-т Ленина, д. 92.

** ООО «Вирмед», 300041, г.Тула, ул.Ф.Энгельса, 6.