

УДК 616.155.392.11:577.115:615.2/.3

*Л.Б. Хворостенко¹, М.Н. Делиханова², В.А. Платицын², О.И. Фролова²***ОСОБЕННОСТИ АНТИОКСИДАНТНОГО ПРОФИЛЯ СЫВОРОТКИ И ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОСТРЫХ ЛЕЙКОЗАХ**¹Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Тюменской области «Областная клиническая больница №1», Тюмень²ГОУ ВПО Тюменская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития, Центральная научно-исследовательская лаборатория, Тюмень**Контактная информация:***Хворостенко Лев Борисович, врач-гематолог ГБУ ОКБ №1***адрес:** 625023, г. Тюмень, ул. Котовского, 55; **тел.** +7(3452)28-7718**e-mail:** lione-83@mail.ru

Статья поступила: 06.08.2011, принята к печати: 25.10.2011.

Резюме

В работе изучены элементы антиоксидантной защиты организма у пациентов с впервые выявленным острым лейкозом. Оценивается влияние исходного уровня биохимических показателей липидных ретинола, α -токоферола, церулоплазмينا, активности глутатион-S-трансферазы на результаты химиотерапии.

Ключевые слова: острый лейкоз, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, ретинол, α -токоферол, церулоплазмин, глутатион-S-трансфераза.

*L.B. Khvorostenko¹, M.N. Delikhanova², V.A. Platitsyn², O.I. Frolova²***FEATURES ANTIOXIDANTS PROFILE OF SERUM AND ERYTHROCYTES AT ACUTE LEUKEMIA**¹Clinical Hospital №1, Tumen²State Medical Academy, Tumen**Abstract**

This paper studies elements of antioxidant defense in patients with newly diagnosed acute leukemia. The influence the initial level biochemical values: retinol, α -tocopherol, ceruloplasmin, activity of glutathione-S-transferase on the results of chemotherapy.

Key words: acute leukemia, lipid peroxidation, antioxidant protection, retinol, α -tocopherol, ceruloplasmin, glutathione-S-transferase.

Введение

В связи с ростом онкологических заболеваний, проблема их лечения становится наиболее актуальной. Основным методом лечения онкогематологических заболеваний, в частности ОЛ, является интенсивная полихимиотерапия. Однако, несмотря на высокий процент ремиссий после начальной терапии, часто бывает рецидив заболевания [8; 13; 15].

В последнее время появилось множество исследовательских работ, доказывающих мембранотоксическую активность опухолевых клеток, которая реализуется путем способности опухолевого субстрата «генерировать» активные формы кислорода, оказывающие цитотоксическое действие на окружающие ткани и проходящие через них клетки крови [6], а также подтверждающих активацию свободно-радикального окисления липидов при ОЛ [7; 16]. Основной точкой приложения нерегулируемой активации свободно-радикального окисления липидов являются фосфолипиды клеточных мембран [11].

Основными механизмами в метаболизме и распределении ксенобиотиков являются функционирование ферментов первой и второй фазы их биотрансформации. Фермент второй фазы глутатион-S-трансфераза класса Р участвует в процессах детоксикации широкого спектра электрофильных соединений, включая мутагены и канцерогены окружающей среды [14; 15]. Многие цитостатики, применяемые для лечения

острых лейкозов, такие как алкилирующие агенты, антрациклины, стероидные гормоны также являются субстратами глутатион-S-трансфераз [9; 10]. Накопление свободных радикалов в высоких концентрациях приводит к повреждению мембран, окислению мембранных структур жизненно важных органов – печени, сердца, почек – в конечном итоге может развиваться полиорганная недостаточность, ведущая к гибели пациента. Но природа предусмотрела защиту от свободно-радикального окисления, включающую неферментативные механизмы (витамины-антиоксиданты и др.) и ферментативные (внутриклеточные ферменты, например супероксиддисмутазы, и внеклеточные, к которым относится церулоплазмин [1; 2]).

Цель исследования. Изучить особенности антиоксидантного профиля сыворотки и эритроцитов на различных этапах химиотерапии ОЛ.

Материалы и методы

Протокол исследования включает проспективное (5 лет) с 2006 по 2011 гг. наблюдение 75 больных с момента верификации диагноза ОЛ и на дальнейших этапах терапии.

Комплексное обследование и проспективное наблюдение пациентов проводилось на базе гематологического отделения Тюменской областной клинической больницы. Возраст пациентов 18÷77 лет (ср. 44,3 лет). Мужчин было 41 (54,67 %), женщин – 34 (45,33 %).

Лабораторное исследование включало в себя:

- экстракцию липидов из крови (методом Фолча–Блура),
- определение диеновых конъюгатов полиненасыщенных жирных кислот (метод И.Д. Стальной, 1977),
- определение содержания шиффовых оснований (флуориметрический метод W.R. Bidlack, 1959),
- определение активности глутатион-S-трансферазы (Г-S-T) в эритроцитах (А.И. Карпищенко и др., 2002 г.),
- одновременное флуориметрическое определение витаминов А и Е в сыворотке/плазме крови (Р.Ч. Черняускене и др., 1984),
- определение церулоплазмينا в сыворотке крови иммунотурбидиметрическим методом (реактивы фирмы «SENTINEL», Италия).

Результаты и обсуждение

При исследовании фракционного состава липидного бислоя мембран эритроцитов больных ОЛ нами обнаружены выраженные изменения липидной архитектоники мембран. Как следует из представленных на рис. 1 данных, при манифестации ОЛ наблюдается резкое снижение пула общих фосфолипидов мембран эритроцитов больных ($p < 0,05$). При достижении первичной ремиссии заболевания, во время проведения индукционной, консолидационной терапии, развитии рецидива и противорецидивной терапии сохраняется дефицит общих фосфолипидов (ФЛ).

Отмечается достоверное снижение концентрации общего холестерина (ХС) мембран эритроцитов больных ОЛ во время консолидационной терапии, а также увеличение концентрации общего ХС мембран эритроцитов пациентов с ОЛ во время рецидива заболевания и противорецидивной терапии.

Полученные данные в период рецидива заболевания и противорецидивной терапии свидетельствуют о снижении механизмов эстерификации ХС, направленных в норме на выведение из мембранных структур избытков ХС и сохранение агрегатных свойств липидного бислоя клеточных мембран в связи с дефицитом мембранных фосфолипидов [3].

Увеличение концентрации ХС в липидном бислое клеточных мембран можно рассматривать как компенсаторную реакцию, направленную на поддержание стабильности липидного матрикса в условиях дефицита фосфолипидов [11].

Однако обогащение мембран эритроцитов ХС ведет к значительному возрастанию ригидности клеточных мембран, ухудшая основные параметры клеток, в частности кислородно-транспортную функцию красных клеток крови, их деформируемость, а, следовательно, и реологические свойства крови, а также функциональную активность иммунокомпетентных клеток.

Данный факт демонстрирует компенсаторное увеличение концентрации ХС в липидном бислое мембран эритроцитов, направленное на поддержание стабильности липидного матрикса в условиях глубокого дефицита мембранных фосфолипидов.

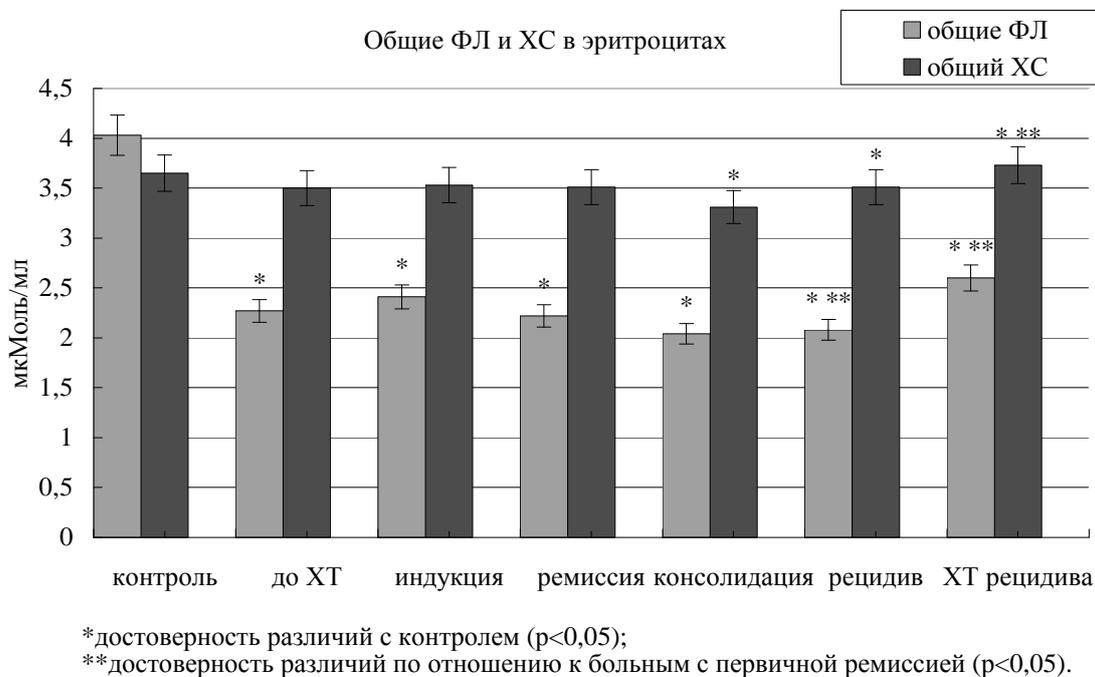


Рис. 1. Липидный спектр мембран эритроцитов ОЛ в различные периоды заболевания.

Таким образом, у пациентов с ОЛ во все периоды заболевания регистрируются мембрано-деструктивные изменения эритроцита, более выраженные в периоды рецидивов и противорецидивной терапии. Определение активности процессов перекисидации липидов, антиоксидантной системы и структурных параметров клеточных мембран проведено также на модели эритроцитов [4]. Как следует из приведенных на рис. 2 данных, в мембранах эритроцитов больных ОЛ в период верификации диагноза отмечается высокий, значительно превышающий показатели здоровых лиц ($p < 0,05$), уровень концентрации первичных продуктов ПОЛ – ДК, обладающих наибольшими высокотоксичными свойствами в плане повреждения внутриклеточных органелл, мембранных липопротеидов, белков, ферментов трансмембранного транспорта [5; 12]. В период достижения первичной ремиссии ОЛ во время индукционной, консолидационной терапии, рецидиве заболевания и противорецидивной терапии отмечается сохранение достоверно высоких показателей токсичных диеновых конъюгат ($p < 0,05$). Также достоверно увеличивается элиминация почками диеновых конъюгат ($p < 0,05$) с постепенным снижением этой способности. Уровень конечных продуктов липоперекисидации липидов – ШО у больных ОЛ во все периоды заболевания достоверно выше показателей контрольной группы ($p < 0,05$), что видно на рис. 3. Образования Шиффа – конечные продукты перекисидации липидов занимают особое место в процессах ПОЛ. С одной стороны, непрерывное накопление в мембранных структурах ШО, представляющих собой необратимые «сшивки» диальдегидов со свободными аминокеттогруппами мембранных белков, характеризует стадию дегенеративных изменений клеток. С другой, высокий уровень ШО можно рассматривать как адаптивный процесс, направленный на элиминацию из клеток более токсичных метаболитов ПОЛ – ДК и МДА [4]. В период консолидационной терапии ОЛ отмечается увеличение деструктивных процессов мембран эритроцитов, подтверждаемое достоверно высоким уровнем ШО, который достоверно выше показателей группы с первичной ремиссией ($p < 0,05$). Во время проведения противорецидивной терапии деструктивные процессы наиболее выражены.

Элиминация с мочой конечных продуктов перекисидации липидов – оснований Шиффа – у больных ОЛ во все периоды достоверно выше аналогичных показателей контрольной группы ($p < 0,05$).

В период консолидационной терапии, рецидива заболевания ОЛ отмечается увеличение элиминации конечных продуктов перекисидации липидов мембран эритроцитов, подтверждаемое высоким уровнем ШО в моче, который достоверно выше показателей группы с первичной ремиссией ($p < 0,05$) с незначительным снижением в период терапии рецидива заболевания.

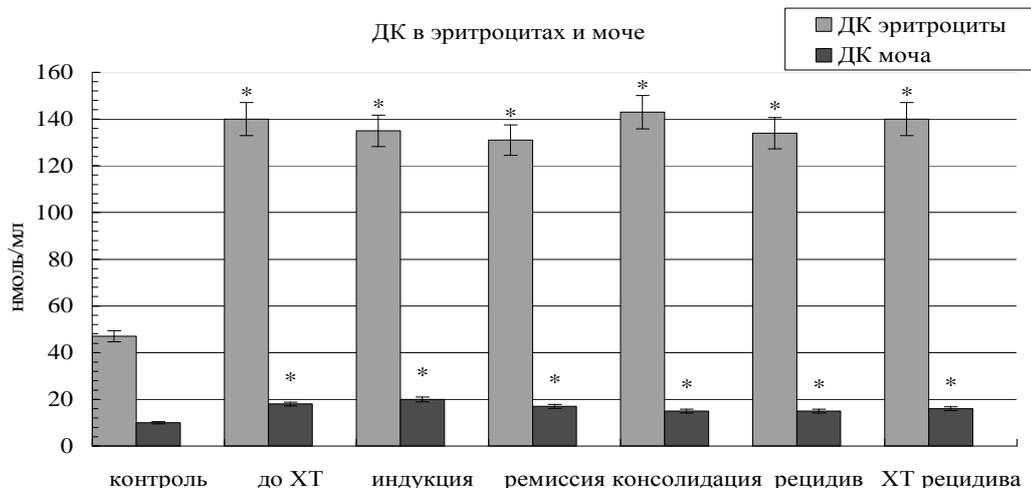
Полученные данные свидетельствуют, что у больных ОЛ наблюдается увеличение активности процессов липоперекисидации мембранных липидов с наибольшей выраженностью в период рецидива ОЛ.

В сыворотке крови больных ОЛ обнаружено статистически значимое снижение уровня антиоксидантов ретинола и α -ТФ по сравнению с показателями контрольной ($p < 0,05$) группы (рис. 4).

Снижение уровня антиоксидантов было во все периоды течения ОЛ. Выявлена достоверная недостаточность уровня ферментативной АОЗ в сыворотке крови больных ОЛ в различные периоды заболевания за счет статистически достоверного снижения уровня церулоплазмينا по сравнению ($p < 0,05$) с показателями контрольной группы (рис. 5). Наибольшее снижение концентрации церулоплазмينا в сыворотке наблюдалось у пациентов в период рецидива заболевания, которое достоверно ниже по отношению к пациентам с первичной ремиссией ($p < 0,05$).

В тоже время отмечается напряженность работы ферментативной АОЗ за счет статистически достоверного увеличения уровня активности Г-S-T по сравнению с показателями контрольной группы ($p < 0,05$), которая достигает пика активности в период индукционной терапии.

Статистически достоверные изменения уровня активности Г-S-T ($p < 0,05$) у больных с первичной ремиссией наблюдались в группах пациентов в период верификации диагноза и консолидационной терапии.



* достоверность различий с контролем ($p < 0,05$);

** достоверность различий по отношению к больным с первичной ремиссией ($p < 0,05$).

Рис. 2. Содержание начальных продуктов перекисидации липидов в мембранах эритроцитов и моче больных ОЛ в различные периоды заболевания.

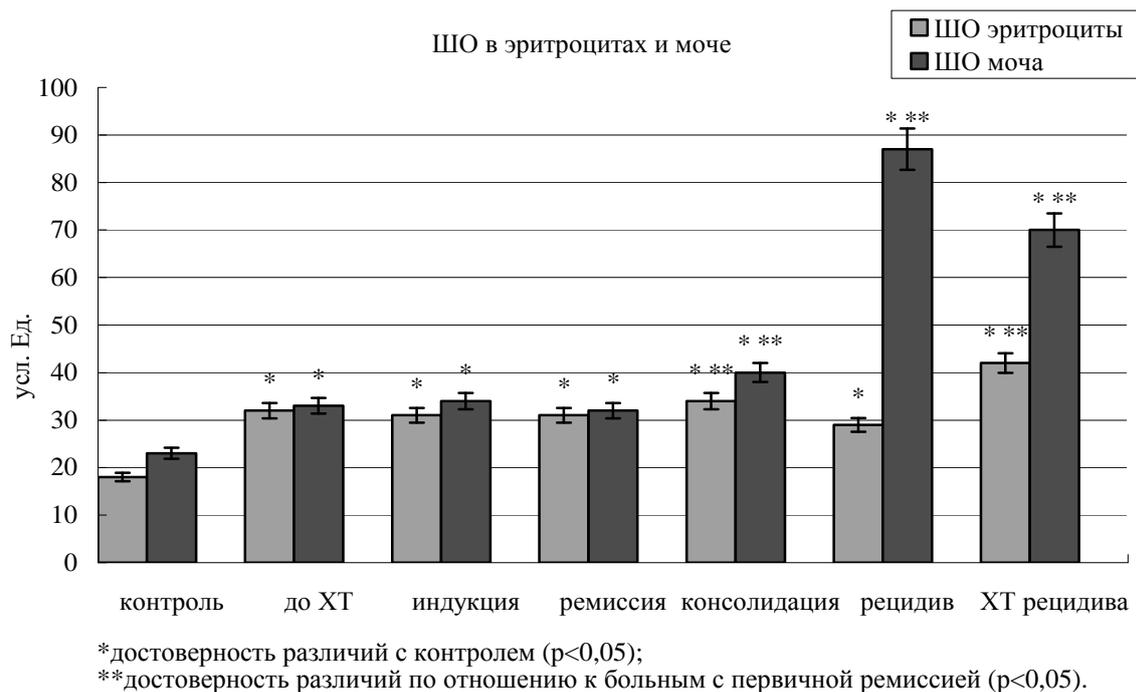


Рис. 3. Содержание конечных продуктов пероксидации липидов в мембранах эритроцитов и моче больных ОЛ в различные периоды заболевания.

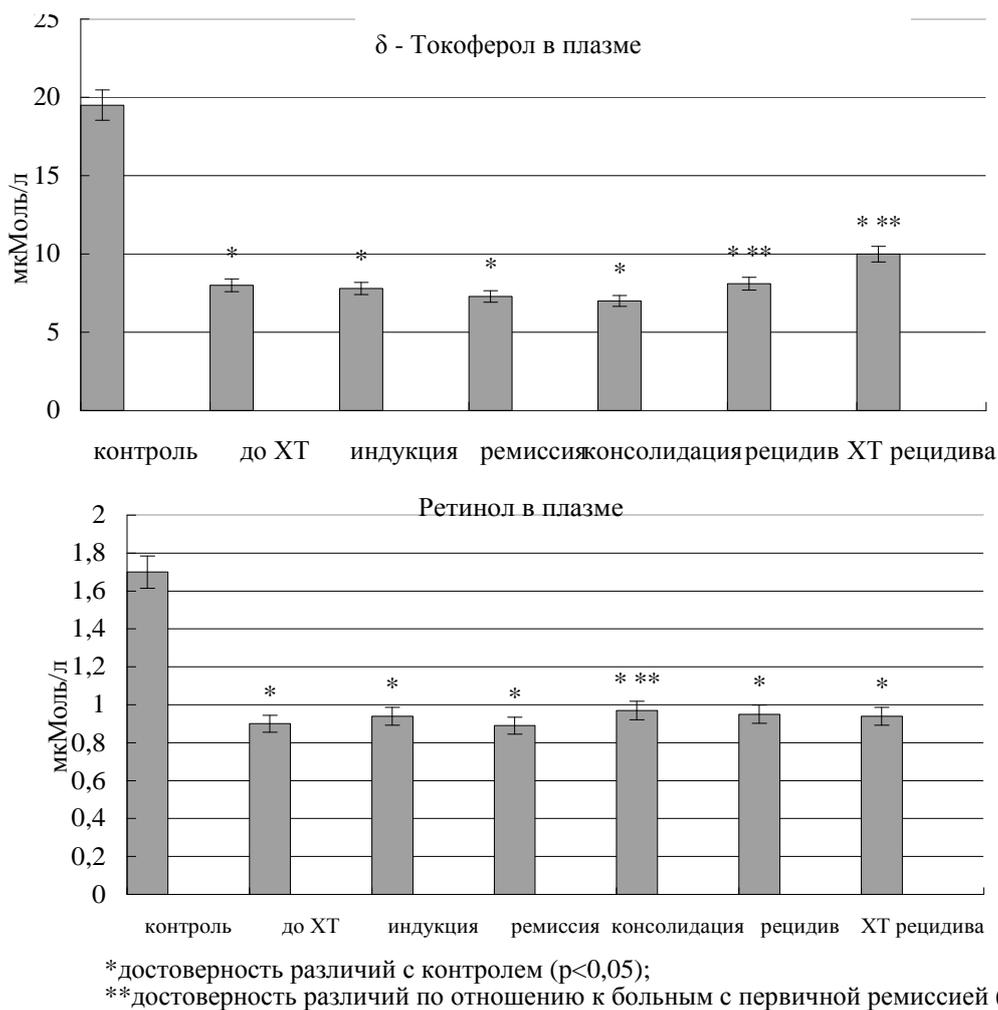


Рис. 4. Содержание жирорастворимых витаминов-антиоксидантов в сыворотке крови больных ОЛ в различные периоды заболевания.

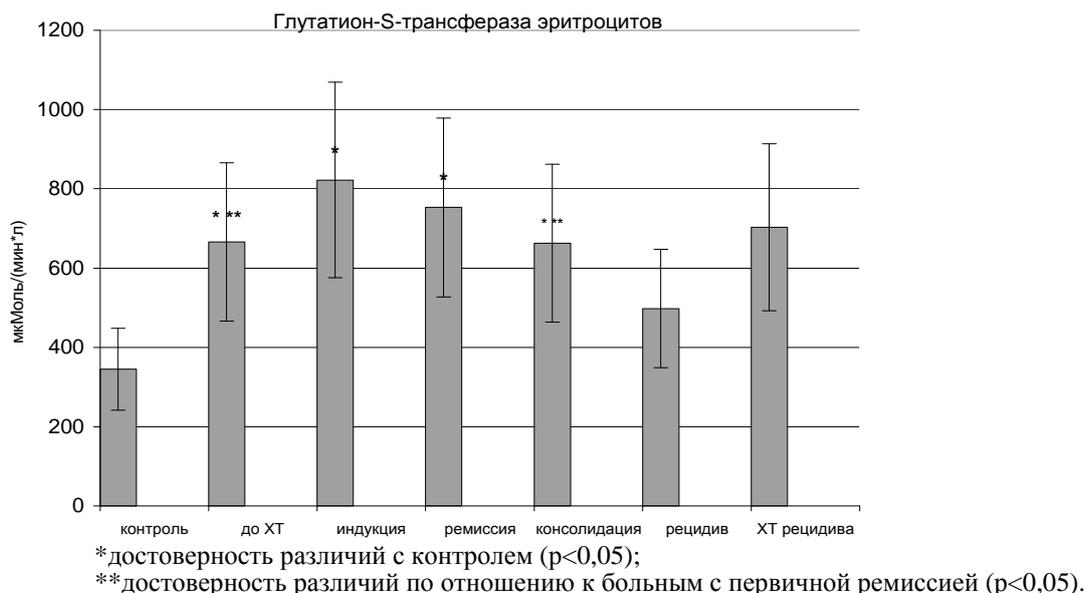


Рис. 5. Ферментативный антиоксидантный профиль сыворотки крови и эритроцитов у больных ОЛ в различные периоды заболевания.

Заключение

В разные периоды течения ОЛ можно констатировать наличие глубоких изменений липидной архитектоники мембран эритроцитов, проявляющихся дефицитом общих фосфолипидов в условиях нерегулируемой интенсификации процессов перекисидации липидов. У больных наблюдается достоверно избыточное накопление первичных продуктов липопероксидации мембранных липидов – дис-

новых конъюгат – на всех этапах с наибольшей выраженностью в период консолидационной терапии ОЛ и постепенным снижением компенсаторных механизмов элиминации. При развитии рецидива заболевания наблюдается наиболее выраженное снижение активности ферментативного антиоксидантного профиля сыворотки и эритроцитов на фоне сохраняющегося глубокого некомпенсированного дефицита ферментативного звена антиоксидантной защиты.

Литература

1. Бердинских Н.К., Курищук К.В., Лянюшко Н.М. и др. Церулоплазмин: вид биотехнологии до клинического применения. – К., 2006. – 175 с.
2. Волкова М.А. Клиническая онкогематология. – М.: Медицина, 2001. – 571 с.
3. Грацианский Н.А. Холестерин и здоровье. – Тюмень, 1995. – 68 с.
4. Жмуров В.А., Крылов В.И., Кашуба Э.А., Чимаров В.М. Нephропатии (аспекты мембранологии). – Тюмень, 1993. – 360 с.
5. Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б., Шергин С.И. Окислительный стресс // Диагностика, терапия, профилактика. РАМН, Сиб. отд., Новосибирск, 1993. – 181 с.
6. Киселев Ф.Л., Павлиш О.А., Татосян О.Г. Молекулярные основы канцерогенеза у человека. – М., 1990. – 316 с.
7. Лосева М.И., Поспелова Т.И. Печень при гемобластозах: научное издание. – Новосибирск: НМИ, 1999. – 414 с.
8. Поддубная И.В., Хасанов Р.Ш., Ручкин В.Н. Открытое несравнительное исследование гикамтина в качестве терапии 2 линии при раке яичников. Лечение рецидивов рака яичников гикамтином - опыт российских регионов (предварительная оценка непосредственных результатов) // Современная Онкология. – 2001. – Т. 3, № 1. – С. 36–8.
9. Ставровская А.А. Клеточные механизмы множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток // Биохимия. – 2000. – Т. 65, Вып. 1. – С. 112–26.
10. Ставровская А.А. Резистентность больных гемобластозами к лекарственной терапии: молекулярные механизмы и проблемы преодоления множественной лекарственной устойчивости. В кн.: Клиническая онкогематология, издание второе. М.А. Волкова (ред.). – М.: Медицина, 2007. – С. 246–56.
11. Сторожок Н.М. О роли и механизме действия фосфолипидов в процессе окисления природных систем, содержащих антиоксиданты // Вопросы питания. – 1996. – 2. – С. 25–8.
12. Beartling C.J. Role of hydrogen peroxide in the cytotoxic effects of UV-A/B radiation on mammalian cell // Photochem. Photobiol. – 1996. – 64 (1). – P. 137–42.
13. Robak Tadeusz. Second malignancies and Richter's syndrome in patients with chronic lymphocytic leukemia // Hematology. – 2004. – 9(5–6). – P. 387–400.
14. Salinas A.E., Wong M.G. Glutathione S-transferases-a review//Curr. Med. Chem. – 1999. – 6. – P. 279–309.
15. Thomas I.T., Coley H.M. Overcoming multidrug resistance in cancer: an update on the clinical strategy of inhibiting P-glycoprotein // Cancer Control. – 2003. – 10. – P. 159–65.
16. Wagner B.A., Buettner G.R., Burns C.P. Vitamin E slows the rate of free radical-mediated lipid peroxidation in cells // Arch Biochem Biophys. – 1996. – 334(2). – P. 261–7.