

V. B. Sirota, L. E. Muravleva

BLOOD POL-AOP AND OMP IN BREAST CANCER PATIENTS AT COMBINATION THERAPY WITH ARGLABIN

Karaganda State Medical Academy MH RK, Karaganda, Kazakhstan

ABSTRACT

Arglabin was studied for the effect on the system of peroxide oxidation of lipids (POL), antioxidant protection (AOP) and oxidation modification of proteins (OMP) in the blood of patients with locally advanced breast cancer (LABC) when administered prior to a pre-surgery radiation therapy (RT). RT was found to contribute to the preservation of high lipoperoxidation rate in LABC patients, induces the formation and accumulation of dinitrophenyl hydrazones both of basic and neutral nature. Administration of Arglabin prior to RT has a positive effect on POL and AOP system on the whole which is seen in the reduction of the accumulation rate of dienone conjugates to 1.3 times, ketodienes — to 1.5 times, average weight molecules to 1.3 times in blood erythrocytes and lipoperoxidation coefficient — to 1.5 times. Arglabin contributes to the expressed decrease of AOP indices in the blood of the patients after finishing RT in the pre-surgery period.

Key words: breast cancer, Arglabin, peroxide oxidation of lipids, antioxidant protection.

В. Б. Сирота, Л. Е. Муравлева

ПОЛ-АОЗ И ОМБ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ С АРГЛАБИНОМ

Карагандинская государственная медицинская академия МЗ РК, г. Караганда, Казахстан

РЕЗЮМЕ

Исследовано воздействие арглабина на систему перекисного окисления липидов (ПОЛ), антиоксидантную защиту (АОЗ) и окислительную модификацию белков (ОМБ) крови больных местнораспространенным раком молочной железы (МРМЖ) на фоне предоперационной лучевой терапии (ЛТ). Выявлено, что ЛТ способствует сохранению высокого уровня липопероксидации в крови больных МРМЖ, индуцирует образование и накопление динитрофенилгидразонов как основного, так и нейтрального характера. Применение арглабина на фоне ЛТ оказывает позитивное воздействие на систему ПОЛ и АОЗ в целом, что проявляется в снижении степени аккумуляции диеновых конъюгатов в 1,3 раза, кетодиенов в 1,5 раза и молекул средней массы в 1,3 раза в эритроцитах крови, коэффициента липопероксидации в 1,5 раза. Арглабин способствует выраженному снижению показателей ОМБ в крови больных после окончания ЛТ в предоперационном периоде.

Ключевые слова: рак молочной железы, арглабин, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита.

ВВЕДЕНИЕ

Лечение местнораспространенного рака молочной железы (МРМЖ) — комплексное, включающее лучевую терапию (ЛТ), хирургическое вмешательство и химиогормональное воздействие. Известно, что у больных МРМЖ развивается выраженный синдром перексидации, который усугубляется предоперационной ЛТ и неоадьювантной химиотерапией, обладающей высокой агрессивностью [6; 8; 13].

При изучении состояния фосфолипидов легочной ткани и плазмы крови под воздействием угольно-породной пыли и арглабина в эксперименте установлено влияние арглабина на липидный обмен в целом и, в большей степени, на обмен фосфолипидов [5].

Цель настоящего исследования — выявление воздействия арглабина на систему ПОЛ, АОЗ и ОМБ крови больных МРМЖ на фоне предоперационной ЛТ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Показатели окислительного метаболизма исследованы у 96 женщин, — у 71 больной МРМЖ и у 25 практически здоровых женщин (которые составили группу контроля — группа 1). Все больные имели МРМЖ с цитологической верификацией диагноза до лечения. По возрасту больные были от 40 до 70 лет. Со II стадией процесса было 36 больных, с III стадией — 35.

Одна группа женщин (группа 2) из 35 человек получала только лучевую терапию, другой группе (группа 3) в составе 36 женщин при лучевом лечении арглабин вводили по 185 мг/м² 2%-ного раствора в количестве 15–20 инъекций ежедневно внутривенно перед сеансом лучевой терапии. Курс предоперационной дистанционной гамма-терапии проводили мелкими фракциями по 2 Гр на аппаратах «АГАТ-С» и «АГАТ-Р», СОД 50 Гр на опухоль и 40–46 Гр на области регионарных лимфоузлов. Забор крови у больных осуществляли натощак до лучевой терапии, в середине лечения, после окончания его и перед операцией.

Для характеристики состояния системы ПОЛ определяли в эритроцитах крови содержание диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов (КД), малонового диальдегида (МДА), шиффовых оснований (ШО), средних молекул (СМЭ), суммарных первичных продуктов (СПП), суммарных вторичных продуктов (СВП). В плазме крови исследовали содержание ДК, МДА.

МДА в плазме определяли по методу Э. Н. Коробейниковой (1989) [9] в реакции с тиобарбитуровой кислотой, ДК в плазме — по А. В. Гаврилову, М. И. Мишкородной (1983) [2]. Уровень ДК и КД в эритроцитах крови оценивали по методу В. Н. Ушкаловой и Г. Д. Кадочниковой (1987) [14]. Содержание МДА в эритроцитах выявляли по М. С. Гончаренко и А. М. Латиповой (1985) [3]. Для определения ШО, СПП, СВП использовали методику Е. И. Львовской и соавт. (1991) [11]. Содержание СМЭ в эритроцитах изучали по методу А. Н. Ковалевского и О. Е. Нифантьева (1990) [7]. Рассчитывали коэффициент ДК/МДА в эритроцитах и коэффициент липопероксидации (Клп) в эритроцитах по формуле:

$$K_{лп} = \left(\frac{ДК_{кл}}{ДК_{к}} \times \frac{МДА_{кл}}{МДА_{к}} \times \frac{ШО_{кл}}{ШО_{к}} \right) / \left(\frac{КАТ_{кл}}{КАТ_{к}} \times \frac{ГПО_{кл}}{ГПО_{к}} \right)_{(1)}$$

Интенсивность АОЗ оценивали по активности ферментов каталазы (КТ), глутатионпероксидазы (ГПО) и аденозиндезаминазы (АДА). Активность КТ в эритроцитах определяли по методу М. А. Королюка и соавт. (1988) [10].

Активность ГПО в эритроцитах определяли по методу С. Н. Власовой и соавт. (1990) [1]. Активность АДА в эритроцитах оценивали по методу И. Б. Немеча с соавт. [12]. Окислительную модификацию белков (ОМБ) в плазме крови исследовали по методу Е. Е. Дубининой и соавт. (1993) [4]. В качестве метаболитов ОМБ определяли алифатические кетондинитрофенилгидразоны нейтрального характера (ОМБ₃₅₆), алифатические альдегиддинитрофенилгидразоны нейтрального характера (ОМБ₃₇₀), алифатические кетондинитрофенилгидразоны основного характера (ОМБ₄₃₀), алифатические альдегиддинитрофенилгидразоны основного характера (ОМБ₅₃₀).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные выявили, что у женщин с МРМЖ в крови на высоте клинического проявления аккумулируются продукты ПОЛ, характерные для ста-

дии инициации и пропагации цепей окисления. ЛТ способствует дальнейшей индукции ПОЛ вследствие образования большого количества свободных радикалов, что является хорошо изученным феноменом.

Согласно современным представлениям динамика индивидуальных показателей ПОЛ не является корректным критерием, позволяющим дать объективное заключение о степени изменений процессов в целом, особенно в случае применения того или иного вида лечения. В связи с этим был проведен расчет коэффициента липопероксидации (К_{лп}) в эритроцитах, позволяющий учитывать динамическое состояние как системы ПОЛ, так и АОЗ. До лечения К_{лп} был равен 6,4, в середине лечения он возрос и составил 6,9, после ЛТ наблюдалось дальнейшее увеличение этого показателя до 8,6, тогда как перед операцией К_{лп} снижался до 7,1.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что в условиях ЛТ интенсивность ПОЛ крови больных достаточно велика. Условием, способствующим стойкой интенсификации ПОЛ, является усиленная регенерация активных форм кислорода при гамма-облучении, индуцирующие появление новых цепей окисления. В условиях стойкого напряжения АОЗ эффективная утилизация АФК и метаболизация продуктов ПОЛ не происходят. Общую тенденцию иллюстрирует К_{лп}.

В связи с этим было изучено состояние системы ПОЛ–АОЗ крови на фоне приема арглабина и его влияние на ее показатели (табл. 1–3). На фоне применения арглабина наблюдается снижение степени аккумуляции ДК в эритроцитах крови не только по сравнению с показателями больных до лечения, но и с таковыми у больных группы 2. Такая позитивная направленность сохранялась не только после ЛТ, но и перед операцией. В этот период содержание ДК было достоверно ниже такового в группе пациенток сравнения в 1,3 раза.

Аналогичная зависимость была зафиксирована и для КД, особенно в период после ЛТ. Содержание КД крови больных, получавших арглабин, было в 1,5 раза ниже аналогичного показателя у группы сравнения. Анализ динамики МДА в эритроцитах крови больных на фоне арглабина показал отчетливую тенденцию к ее уменьшению у больных группы 3, причем в период после ЛТ и перед операцией. Эти различия носят статистически значимый характер.

Вместе с тем не было зафиксировано однозначно позитивных сдвигов со стороны ШО, СПП, СВП, содержание которых перед операцией в крови больных группы 3 превышало таковое в группе сравнения, хотя эти отличия не были достоверны. Обращает на себя внимание достаточно отчетливая тенденция к уменьшению содержания СМЭ в динамике лечения больных группы 3. Следовательно, арглабин способствует некоторому снижению уровня эндогенной интоксикации у больных МРМЖ при лучевом лечении.

В группе больных, получавших лучевую терапию с арглабином, в плазме крови на фоне лечения показатель ДК стабильный, а уровень МДА снижается к середине лечения, затем возвращается к исходному зна-

Таблица 1

Показатели системы ПОЛ в эритроцитах крови больных РМЖ при ЛТ с арглабином ($M \pm m$), %

Группа больных		Показатель						
		ДК, усл. ед./мл	КД, усл. ед./мл	МДА, мкмоль/мл	ШО, усл. ед.	СМЭ, усл. ед.	СПП, усл. ед.	СВП, усл. ед.
Группа контроля (n=25)		32,1±2,28	7,0±0,2	6,2±0,01	0,069±0,002	0,1±0,007	0,49±0,034	0,122±0,02
Больные РМЖ до ЛТ		96,5±0,36	69,7±0,37	9,93±0,07	0,064±0,007	0,188±0,02	0,64±0,011	0,457±0,01
Группа 2	середина ЛТ	95,98±0,38	78,255±0,3*	9,52±0,06*	0,063±0,009	0,197±0,02	0,66±0,008	0,563±0,03*
	после ЛТ	107,2±0,34**	80,06±0,3**	10,33±0,1**	0,072±0,01	0,184±0,02	0,63±0,013	0,5±0,023
	перед операцией	74,89±0,50***	55,28±0,49***	10,09±0,1	0,062±0,015	0,159±0,009	0,545±0,03	0,396±0,04***
Группа 3	середина ЛТ	80,82±0,35*	50,43±0,26*	9,35±0,08*	0,071±0,007	0,156±0,008	0,62±0,014	0,395±0,02
	после ЛТ	80,78±0,18#	51,92±0,18***	9,86±0,08***	0,066±0,012	0,145±0,006	0,669±0,007	0,396±0,01#
	перед операцией	59,32±0,38####	56,58±0,53***	8,29±0,07	0,076±0,023	0,156±0,01	0,66±0,01##	0,509±0,01***

* Достоверность показателей больных МРМЖ до ЛТ по отношению к середине ЛТ.

** Достоверность показателей больных МРМЖ в середине ЛТ по отношению к показателям после ЛТ.

*** Достоверность показателей больных МРМЖ после ЛТ по отношению к показателям перед операцией.

Достоверность показателей больных МРМЖ группы 3 после ЛТ по отношению к данным больных группы 2.

Достоверность показателей больных МРМЖ группы 3 перед операцией по отношению к больным группы 2.

Таблица 2

Показатели ПОЛ в плазме крови больных РМЖ при ЛТ с арглабином ($M \pm m$), %

Группа		Показатель ПОЛ в плазме крови	
		ДК, нмоль/л	МДА, нмоль/л
Контрольная группа (n=25)		0,7±0,015	3,4±0,21
Больные РМЖ до лечения (n=71)		2,89±0,08	3,86±0,048
Больные РМЖ, получающие ЛТ (n=35)	середина ЛТ	3,126±0,08*	4,141±0,028*
	после ЛТ	3,505±0,002**	4,195±0,041
	перед операцией	3,43±0,078	2,47±0,048***
Больные РМЖ, получающие ЛТ + А (n=36)	середина ЛТ	2,33±0,085*	3,63±0,040*
	после ЛТ	2,32±0,051#	3,83±0,044***
	перед операцией	2,03±0,087####	3,54±0,043####

* Достоверность показателей больных МРМЖ до ЛТ по отношению к середине ЛТ.

** Достоверность показателей больных МРМЖ в середине ЛТ по отношению к показателям после ЛТ.

*** Достоверность показателей больных МРМЖ после ЛТ по отношению к показателям перед операцией.

Достоверность показателей больных МРМЖ группы 3 после ЛТ по отношению к показателям больных группы 2.

Достоверность показателей больных МРМЖ группы 3 перед операцией по отношению к показателям больных группы 2.

Таблица 3

Показатели активности системы АОЗ в эритроцитах крови больных раком молочной железы при лучевой терапии с арглабином ($M \pm m$), %

Группа больных		Показатель		
		КТ, нмоль × Н ₂ O ₂ /мл/мин	ГПО, мкмоль × ГSSH/мл/мин	АДА, нмоль × АДА/мл/мин
Группа контроля (n=25)		0,5±0,09	157,9±6,4	5,49±0,256
Больные РМЖ до ЛТ (n=71)		0,508±0,008	108,89±0,336	8,8±0,13
Группа 2	середина ЛТ	0,467±0,001*	102,65±0,36*	8,588±0,11
	после ЛТ	0,456±0,011	117,28±0,36**	8,523±0,12
	перед операцией	0,6±0,02***	63,63±0,21***	6,48±0,11***
Группа 3	середина ЛТ	0,54±0,01	101,75±0,330*	8,01±0,06*
	после ЛТ	0,52±0,009#	87,32±0,134***	7,21±0,06***
	перед операцией	0,55±0,03	81,6±0,25####	6,17±0,03***

* Достоверность показателей больных МРМЖ до ЛТ по отношению к середине ЛТ.

** Достоверность показателей больных МРМЖ в середине ЛТ по отношению к показателям после ЛТ.

*** Достоверность показателей больных МРМЖ после ЛТ по отношению к показателям перед операцией.

Достоверность показателей больных МРМЖ группы 3 после ЛТ по отношению к показателям больных группы 2.

Достоверность показателей больных МРМЖ группы 3 перед операцией по отношению к показателям больных группы 2.

чению ($p < 0,01$). Снижение коэффициента ДК/МДА до 0,6 зарегистрировано в середине лечения и сохранено после лечения. Перед операцией отмечается тенденция к снижению уровня ДК ($p < 0,01$), причем он в 1,4 раза ниже того же показателя до лечения.

Уровень МДА по сравнению с его значением после лучевого лечения перед операцией также снижается ($p < 0,001$), достигая данных контрольной группы. Коэффициент ДК/МДА перед операцией снижается до 0,6, что в 2,3 раза меньше по сравнению с таковым у больных, получавших лучевую терапию без арглабина.

Таким образом, анализируя индивидуальные показатели ПОЛ, можно сделать вывод о позитивном эффекте арглабина, проявляющемся как в ограничении интенсификации ПОЛ, так в снижении степени эндотоксемии.

Анализ активности ферментов АОЗ показал, что у больных группы 3 активность ГПО в середине ЛТ не отличалось от таковой группы сравнения, после окончания ЛТ ее активность продолжала падать, но перед операцией активность ГПО была достаточно стабильной (хотя и достоверно отличалась от значения контроля). В то же время у больных группы 2 перед операцией была выявлена супрессия этого фермента.

Активность ГПО в динамике и по количественным характеристикам у больных групп 2 и 3 не отличалась. Активность АДА снизилась после ЛТ по сравнению с показателем в группе 2 в 1,2 раза.

Расчет $K_{лп}$ в эритроцитах показал, что у больных группы 3 в середине ЛТ он равен 5,6, после ЛТ его значение увеличилось до 6,7 и перед операцией $K_{лп}$ был равен 4,8. Сопоставление значений $K_{лп}$ во все исследуемые сроки у больных групп 2 и 3 показало, что при сохранении единой направленности применение арглабина результировалось позитивным воздействием на систему ПОЛ-АОЗ в целом, что доказывается более низкими значениями этого коэффициента, особенно в период перед операцией.

В группе больных, получавших арглабин, показатели $ОМБ_{530}$ и $ОМБ_{430}$ также остались стабильными на одном уровне при ЛТ. Отмечается нарастание показателей $ОМБ_{370}$ и $ОМБ_{356}$ ($p < 0,001$) (табл. 4).

Таким образом, введение арглабина не оказало позитивного влияния на метаболиты $ОМБ_{530}$. По сравнению с группой больных, получавших только лучевое лечение, $ОМБ_{430}$ увеличилось в 1,4 раза, $ОМБ_{370}$ — в 2,0 раза и $ОМБ_{356}$ — в 1,9 раза к концу ЛТ ($p < 0,001$).

Это можно объяснить тем, что гамма-излучение оказывает повреждающее воздействие на белки, что выражается в их фрагментации, а также в образовании крупных белковых агрегатов. Такие белки медленно метаболизируются, и вероятно предположение о провоцировании процессов аутоенсибилизации.

При сравнении показателей $ОМБ$ плазмы крови у больных РМЖ перед операцией отмечается снижение уровня метаболитов $ОМБ$ в группе больных, получавших арглабин, по сравнению с группой 2: $ОМБ_{430}$ — в 1,3 раза, $ОМБ_{370}$ — в 1,2 раза, $ОМБ_{356}$ —

Таблица 4

Показатели $ОМБ$ плазмы крови больных РМЖ при ЛТ с арглабином ($M \pm m$), %

		Показатель $ОМБ$			
		530	430	370	356
Контрольная группа (n=25)		0,26±0,01	1,87±0,004	3,4±0,09	3,18±0,187
Больные РМЖ до лечения (n=71)		1,37±0,049	5,4±0,097	8,26±0,126	7,26±0,113
Больные РМЖ, получающие ЛТ (n=35)	середина ЛТ	1,3±0,006	4,68±0,11*	5,9±0,29*	5,5±0,27*
	после ЛТ	1,3±0,053	3,95±0,093**	4,56±0,134**	4,28±0,133**
	перед операцией	1,95±0,05***	7,01±0,07***	11,0±0,08***	10,0±0,08***
Больные РМЖ, получающие ЛТ + А (n=36)	середина ЛТ	1,33±0,037	5,5±0,054	8,64±0,092*	7,83±0,087*
	после ЛТ	1,3±0,027	5,55±0,056#	9,0±0,052**	7,98±0,048**
	перед операцией	1,04±0,05##	5,38±0,06##	9,26±0,13##	8,35±0,12****

* Достоверность показателей больных МРМЖ до лечения по отношению к середине ЛТ.

** Достоверность показателей больных МРМЖ в середине ЛТ по отношению к показателям после ЛТ.

*** Достоверность показателей больных МРМЖ после ЛТ по отношению к показателям перед операцией.

Достоверность показателей больных МРМЖ группы 3 после ЛТ по отношению к показателям больных группы 2.

Достоверность показателей больных МРМЖ группы 3 перед операцией по отношению к показателям больных группы 2.

в 1,2 раза, $ОМБ_{530}$ — в 1,9 раза ($p < 0,001$). Но эти показатели не снижаются до уровня контроля у здоровых женщин. Отсюда следует, что арглабин оказывает определенное благотворное влияние на $ОМБ$ плазмы крови больных РМЖ при предоперационной лучевой терапии, по-видимому, корригируя обменные процессы на фоне проводимого лечения.

ВЫВОДЫ

Применение арглабина в сочетании с ЛТ оказывает позитивное влияние на изучаемые показатели, способствуя снижению образования метаболитов $ОМБ$ перед операцией и стабилизации коэффициента ДК/МДА. Предположительно, арглабин может действовать как перехватчик свободных радикалов, уменьшая тем самым степень окислительного повреждения белков и липидов.

Таким образом, лучевая терапия способствует сохранению высокого уровня липопероксидации в крови больных МРМЖ, индуцирует образование и накопление динитрофенилгидразонов как основного, так и нейтрального характера. Применение арглабина на фоне лучевой терапии оказывает позитивное воздействие на систему ПОЛ и АОЗ в целом, что проявляется в снижении степени аккумуляции диеновых конъюгатов в 1,3 раза, кетодиенов в 1,5 раза и молекул средней массы в 1,3 раза в эритроцитах крови, коэффициента липопероксидации в 1,5 раза. Арглабин способствует

выраженному снижению показателей ОМБ в крови больных после окончания лучевой терапии в предоперационном периоде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Власова С. Н., Шабунина Е. И., Переслегина И. А. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей // Лаб. дело. — 1990. — № 8. — С. 18–22.
2. Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперексидов липидов в плазме крови // Лаб. дело. — 1983. — № 3. — С. 33–35.
3. Гончаренко М. С., Латипова А. М. Метод оценки перекисного окисления липидов // Лаб. дело. — 1985. — № 1. — С. 60–61.
4. Дубинина Е. Е., Шугалей И. В. Окислительная модификация белков // Успехи современной биологии. — 1993. — Т. 113, вып. 1. — С. 71–82.
5. Ибраев С. А., Кулкыбаев Г. А., Байманова А. М. и др. Состояние фосфолипидов легочной ткани и плазмы крови под воздействием угольно-породной пыли и арглабина в эксперименте // Медицина и экология. — 1997. — № 2. — С. 22–25.
6. Кальнова Н. Ю. Влияние радиотерапии на антиокислительную активность тканей и эритроцитов крови // Вопр. мед. химии. — 1998. — № 3. — С. 25–28.
7. Ковалевский А. Н., Нифантьев О. Е. К вопросу о молекулах средней молекулярной массы // Лаб. дело. — 1990. — № 10. — С. 35–39.
8. Корман Д. Б., Потапов С. Л. Рак молочной железы и ненасыщенность липидов крови // Вопр. онкологии. — 1997. — Т. 43, № 2. — С. 164–170.
9. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. — 1989. — № 7. — С. 8–10.
10. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–19.
11. Львовская Е. И., Волчегорский И. А., Шемяков С. Е., Лифшиц Р. И. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов // Вопр. мед. химии. — 1991. — № 4. — С. 93–96.
12. Немечек И. Б., Пестина Т. И., Соковкина Я. М. Аденозиндезаминаза форменных элементов крови: распространение, свойства в норме и при различных гематологических заболеваниях // Вопр. мед. химии. — 1993. — № 4. — С. 16–22.
13. Сирота В. Б. Окислительная модификация белков и уровень катаболитов липоперекисного каскада в плазме крови больных местнораспространенным раком молочной железы на фоне лучевой терапии // Медицина и экология. — 2000. — № 1. — С. 30–32.
14. Ушкалова В. Н., Кадочникова Г. Д. Исследование параметров, характеризующих активность перекисного окисления липидов при изучении адаптации человека к новым климатогеографическим условиям // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1987. — № 5. — С. 571–573.