

I. M. Omarova¹, K. Zh. Musulmanbekov², L. E. Muravleva², N. V. Kozachenko²

EFFECT OF ARGLABIN ON THE STATE OF OXIDATION AND IMMUNE HOMEOSTASIS IN PATIENTS WITH PRIMARY LIVER CANCER

¹ Karaganda State Medical Academy MH RK, Karaganda, Kazakhstan

² Karaganda Regional Cancer Center, Karaganda, Kazakhstan

ABSTRACT

The research was conducted to study the effect of Arglabin on the state of oxidation and immune homeostasis in 74 patients with primary liver cancer. Administration of Arglabin limited the disturbance of biochemical processes which was seen in the reduction of aldehyde-dinitrophenyl hydrazones of basic and neutral nature and presence of middle erythrocyte molecules along with the improvement of immunologic indices — the number of degenerative changes in neutrophils and the number of apoptically changed cells CD95 reduced; CD20 and CD56 increased.

Key words: liver cancer, homeostasis, Arglabin.

И. М. Омарова¹, К. Ж. Мусулманбеков², Л. Е. Муравлева², Н. В. Козаченко²

ВЛИЯНИЕ АРГЛАБИНА НА СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО И ИММУННОГО ГОМЕОСТАЗА БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНЫМ РАКОМ ПЕЧЕНИ

¹ Карагандинская государственная медицинская академия МЗ РК, г. Караганда, Казахстан

² Карагандинский областной онкологический центр, г. Караганда, Казахстан

РЕЗЮМЕ

Изучено влияние арглабина на состояние окислительного и иммунного гомеостаза у 74 больных первичным раком печени. Применение арглабина ограничивает нарушение биохимических процессов, что проявляется снижением уровня альдегиддинитрофенилгидразонов основного и нейтрального характера и содержания средних молекул эритроцитов, а также сопровождается восстановлением иммунологических показателей: уменьшается количество дегенеративных изменений в нейтрофилах, апоптически измененных клеток CD95, увеличивается количество CD20, CD56.

Ключевые слова: рак печени, гомеостаз, арглабин.

ВВЕДЕНИЕ

Опухоль, развивающаяся в организме человека, оказывает постоянное и по мере прогрессирования все более усиливающееся воздействие на состояние окислительного и иммунного гомеостаза. Проводимое общепринятое лечение не способствует нормализации метаболических и иммунологических нарушений в организме больных [2; 8; 9]. Цитостатики обнаруживают сильное ингибирующее влияние на состояние как окислительного метаболизма, так и иммунной системы. Не подлежит сомнению тот факт, что индуцированные цитостатиками метаболические и иммунные нарушения увеличивают частоту вторичных осложнений. Развитие побочных эффектов может приводить к увеличению перерыва в специфическом лечении, ухудшению качества жизни

больных и снижению эффективности проводимой химиотерапии [1; 3; 6; 7].

Исследование биохимических и иммунологических нарушений, возникающих при злокачественных новообразованиях, вопросы коррекции этих нарушений остаются актуальными и все еще не решенными задачами и требуют более глубокого изучения.

Цель исследования состояла в изучении влияния арглабина на состояние окислительного метаболизма и иммунного статуса больных первичным раком печени.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включены 74 пациента с первичным раком печени. Пациенты были разделены на 3 группы: 2 исследуемые (группа 1 — больные, получавшие моно-

химиотерапию арглабином, и группа 2 — больные, получавшие арглабин с 5-ФУ) и контрольную — больные, получавшие стандартную химиотерапию.

В исследуемую группу 1 вошли 23 пациента, 16 мужчин и 7 женщин, в возрасте от 32 до 74 лет, средний возраст 60,2 года. У 14 больных установлена III стадия опухолевого процесса, у 9 — IV стадия. Морфологически у 19 больных диагностирован гепатоцеллюлярный рак, у 2 — холангиоцеллюлярный рак и у 2 — недифференцированный рак. Пациенты получили от 1 до 10 курсов (всего 63 курса) монокимиотерапии (МХТ) по схеме: арглабин 185 мг/м² ежедневно в течение 21 дня с перерывом между курсами 14 дней.

В исследуемую группу 2 вошло 15 больных, 13 мужчин и 2 женщины, в возрасте от 43 до 77 лет, средний возраст 62,3 лет. У 12 больных установлена III стадия опухолевого процесса, у 3 — IV стадия. Морфологически у 14 больных диагностирован гепатоцеллюлярный рак и у 1 — недифференцированный рак. Больные получили от 1 до 7 курсов, всего 33 курса химиотерапии арглабином 185 мг/м² ежедневно в течение 21 дня и 5-ФУ по 300 мг/м² внутривенно через день, всего 10 введений, интервал между курсами 14 дней.

В контрольную группу вошло 36 больных, 27 мужчины и 9 женщин, в возрасте от 32 до 78 лет, средний возраст 56,2 лет. У 1 больного установлена II стадия опухолевого процесса, у 26 — III стадия и у 9 — IV стадия. Морфологически у 28 больных диагностирован гепатоцеллюлярный рак, у 3 — холангиоцеллюлярный рак и у 5 — недифференцированный рак. Больные получили от 1 до 9 курсов химиотерапии, всего 98 курсов. Полихимиотерапия (ПХТ) проведена 19 больным по схеме: 5-ФУ — 500 мг/м² внутривенно в 1-й, 3-й, 5-й, 8-й день и цисплатин — 100 мг/м² внутривенно капельно в 1-й день с интервалом между курсами 21 день, 17 больным — комбинацией 5-ФУ с метотрексатом, винкристином, адриабластин, циклофосфаном.

В плазме крови определяли содержание средних молекул эритроцитов, степень спонтанной и металлкатализируемой окислительной модификации белков (ОМБ), оценивали содержание кислоторастворимых фракций (КРФ) нуклеиновых кислот [4].

Для анализа иммунограммы и обнаружения активации апоптоза использовали стрептавидин-биотинный метод. В исследовании была использована укороченная панель для выявления CD-маркеров лимфоцитов: CD3, CD4, CD8, CD20, CD56 [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании окислительного метаболизма в крови больных первичными карциномами печени до начала лечения выявлены глубокие метаболические нарушения. В плазме крови отмечено достоверное увеличение всех катаболитов ОМБ кетодинитрофенилгидразонов (КДНФГ) основного и нейтрального характера, альдегиддинитрофенилгидразонов (АДНФГ) основного и нейтрального характера (табл. 1).

Таблица 1

Показатели спонтанной ОМБ, средних молекул эритроцитов и кислоторастворимых предшественников нуклеиновых кислот в крови больных первичным раком печени до начала лечения (M±m)

Показатель, усл. ед./мл	Контроль здоровые (n=20)	Больные первичными карциномами печени (n=40)
АДНФГ нейтрального характера	3,40±0,09	21,6±0,26*
КДНФГ основного характера	1,87±0,04	10,8±0,83*
АДНФГ основного характера	0,26±0,01	5,3±0,33*
Средние молекулы эритроцитов	0,11±0,003	0,38±0,01*
КРФ плазмы	0,51±0,08	2,9±0,03*
КРФ эритроцитов	1,83±0,11	3,71±0,07*
КРФ плазмы/КРФ эритроцитов	0,28	0,78

* Достоверность по сравнению с контролем $p < 0,05$.

В качестве вероятных причин возрастания уровня катаболитов ОМБ в плазме крови следует назвать их повреждение активными формами кислорода и снижение активности протеаз, что в конечном итоге и обуславливает накопление продуктов ОМБ. Окислительное повреждение белков сопровождается их усиленной фрагментацией. Об этом свидетельствует как преимущественное образование АДНФГ основного характера, так и резкое увеличение (в 3,4 раза) уровня средних молекул в эритроцитах ($p < 0,05$), увеличение степени фрагментации белков, в т. ч. и за счет перекисно-индуцированного протеолиза.

В плазме крови и эритроцитах больных первичными карциномами печени высок уровень кислоторастворимых предшественников нуклеиновых кислот, что свидетельствует о нарушении обмена нуклеиновых кислот. Помимо этого, наблюдается изменение соотношения гистоноподобных белков в плазме крови, что является безусловным свидетельством перестройки ядерного аппарата и позволяет сделать предположение об изменении регуляции экспрессии генов на уровне состояния хроматина.

ПХТ не способствовала снижению ОМБ в плазме крови больных первичными карциномами печени (табл. 2).

Содержание всех катаболитов ОМБ было не только достоверно выше нормы, но и превышало таковые до лечения, причем в случае КДНФГ нейтрального характера достоверно ($p < 0,05$) возросло. Все показатели фрагментации белков достоверно превышали значения нормы, сопоставление с таковыми до лечения выявило тенденцию к их снижению.

После ПХТ содержание средних молекул эритроцитов (СМЭ) в крови больных продолжает достоверно превышать значение контроля в 2,9 раза ($p < 0,05$), по сравнению со значением до лечения прослеживается некоторая тенденция к снижению.

Содержание КРФ в плазме крови и в эритроцитах продолжает достоверно превышать значение контроля

Таблица 2.

Показатели спонтанной ОМБ, средних молекул эритроцитов и кислоторастворимых предшественников нуклеиновых кислот в крови больных первичным раком печени после лечения ($M \pm m$)

Показатель, усл. ед./мл	До лечения (n=40)	После ПХТ (n=10)	После арглабина (n=10)	После арглабина + 5-ФУ (n=10)
КДНФГ нейтрального характера	18,35±0,84	28,7±1,24*	17,1±0,44*	16,9±0,36*
АДНФГ нейтрального характера	21,6±0,26	26,2±0,63*	20,0±0,98*	18,6±0,6*
КДНФГ основного характера	10,8±0,83	14,3±1,23*	9,8±0,58*	9,1±0,37*
АДНФГ основного характера	5,3±0,33*	6,1±0,12*	4,3±0,19*	3,9±0,033*
Средние молекулы эритроцитов	0,38±0,01	0,32±0,01*	0,31±0,02*	0,28±0,03*
КРФ плазмы	2,9±0,03	2,32±0,08*	2,0±0,02*	1,7±0,09*
КРФ эритроцитов	3,71±0,07	3,25±0,05*	2,91±0,03*	2,75±0,02*
КРФ плазмы/КРФ эритроцитов	0,78	0,71	0,69	0,62

* Достоверность по сравнению с контролем $p < 0,05$.

Достоверность по сравнению с данными до лечения $p < 0,05$.

($p < 0,05$), но прослеживается некоторая тенденция к их снижению по сравнению со значением до лечения. Монотерапия арглабином оказала более позитивное действие на содержание катаболитов ОМБ в плазме крови больных первичным раком печени. Так, отмечена тенденция к снижению КДНФГ и АДНФГ основного и нейтрального характера по сравнению с аналогичными показателями до лечения.

Следует отметить, что все исследуемые показатели достоверно превышали значения контроля, но прогрессирующего увеличения их содержания в плазме крови не наблюдалось.

Содержание СМЭ в крови больных продолжает достоверно превышать значение контроля в 2,8 раза ($p < 0,05$), по сравнению со значением до лечения прослеживается некоторая тенденция к снижению.

Содержание КРФ в плазме крови продолжает достоверно превышать значение контроля в 3,9 раз ($p < 0,05$), в эритроцитах — в 1,6 раз ($p < 0,05$), но прослеживается некоторая тенденция к их снижению по сравнению со значением до лечения (в плазме и эритроцитах крови в 1,1 раза).

Наиболее позитивные результаты были получены при оценке содержания катаболитов ОМБ в плазме крови больных первичным раком печени после окончания курса химиотерапии арглабином в сочетании с 5-ФУ.

Отмечена отчетливая тенденция к снижению содержания КДНФГ и АДНФГ основного и нейтрального характера по сравнению с аналогичными показателями до лечения, хотя значений контроля эти показатели не достигли.

Содержание СМЭ в крови больных после окончания курса химиотерапии арглабином в сочетании с 5-ФУ также было достоверно выше уровня контроля,

по сравнению со значением до лечения прослеживается достоверное снижение содержания СМЭ — в 1,4 раза ($p < 0,05$).

Содержание КРФ в плазме крови продолжает достоверно превышать значение контроля в 3,3 раза ($p < 0,05$), в эритроцитах — в 1,5 раз ($p < 0,05$), выявлена некоторая тенденция к их снижению по сравнению со значением до лечения (в плазме — в 1,3 раза, в эритроцитах — в 1,2 раза).

Таким образом, полученные нами данные показали, что развитие опухолевого процесса в печени существенным образом влияет на биохимические процессы, протекающие в клетках печени, особенно на ее детоксицирующую функцию. Следствием этого, на наш взгляд, является увеличение генерации АФК. Избыток АФК индуцирует повреждение клеточных и субклеточных мембран, что приводит к запуску целого каскада метаболических реакций, вызывающих синдром перекисидации.

Это положение иллюстрируют наши собственные результаты, демонстрирующие усиление окислительной модификации белков крови больных первичными карциномами печени. Увеличение в плазме крови больных динитрофенилгидразонов основного и нейтрального характера свидетельствует об усилении процессов интеграции белковых молекул и их фрагментации, которая носит преимущественный характер.

Вполне допустимо предположение, что развитие интоксикации в организме больных первичными карциномами печени носит в т. ч. и перекисно-индуцированный характер. Поскольку при первичных карциномах печени естественные детоксикационные механизмы нарушены, эффективность защиты организма по обезвреживанию, дезактивации и элиминации низкомолекулярных гидрофобных и амфифильных токсинов, обломков белковых молекул существенно ограничена. Следовательно, нарушен баланс между накоплением токсичных веществ и их дезактивацией, маркером которого являются СМЭ.

В свою очередь, адсорбция среднемолекулярных пептидов на мембранах эритроцитов изменяет процессы трансмембранного переноса, биоэнергетику красных клеток. Кроме того, высокая функциональная активность среднемолекулярных пептидов может быть причиной нарушения микроциркуляции, тканевого дыхания, торможения эритропоэза, усиления иммунотоксикологических реакций организма.

Нарушение обмена нуклеиновых кислот проявляется увеличением в крови больных кислоторастворимых предшественников нуклеиновых кислот. Их увеличение в плазме крови больных может быть объяснено выходом предшественников нуклеиновых кислот из клеток вследствие деструкции мембран последних. Увеличение КРФ в эритроцитах может быть свидетельством еще более глубоких нарушений, возникающих при созревании красных клеток.

В целом у больных первичными карциномами печени происходит резкое увеличение АФК и свободных радикалов, развиваются процессы мембранодеструк-

ции, усиление ОМБ, нарушение обмена нуклеиновых кислот и кальциевого гомеостаза, активируются процессы протеолиза, развивается эндогенная интоксикация. Метаболическая дезорганизация имеет место не только в печени, но и в крови, т. е. патологический процесс приобретает системный характер. При этом первичные повреждения опосредованы усилением образования АФК, вторичные — усилением ОМБ нарушениями в ДНК. Эти метаболические изменения усиливаются при проведении ПХТ.

Монотерапия арглабином и особенно его применение в комплексе с 5-ФУ ограничивает нарушение биохимических процессов и снижает степень интоксикации. По нашему мнению, арглабин может проявлять антиоксидантные свойства путем перехвата АФК, снижая тем самым прооксидантную нагрузку на клетки печени.

При исследовании влияния арглабина на состояние иммунной системы больных первичными карциномами печени было показано, что при проведении монотерапии арглабином наблюдается достоверное ($p < 0,05$) восстановление до нормального уровня субпопуляций Т-лимфоцитов CD3 (табл. 3).

Таблица 3

Иммунологические показатели больных первичными карциномами печени в динамике проведения монотерапии арглабином

Параметр	До лечения (n=42)	После 1-го курса (n=23)	После 3-го курса (n=11)
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	6,2±0,9	7,2±1,5	6,3±1,9
Лимфоциты, %	29,7±7,61	28,0±9,6	29,6±13,8
Нейтрофилы, абс.	4,2±0,6	3,8±0,8	3,9±1,2
Моноциты, %	5,9±3,6	5,8±5,0	6,2±6,0
Эозинофилы, %	2,6±2,4	1,9±1,8	2,3±2,1
CD3, %	36,9±7,5	59,8±10,5	69,4±14,5*
CD20, %	16,2±5,7	15,9±7,8	7,9±7,5
CD56, %	38,9±7,5	46,5±10,6	72,1±14,2*
CD4, %	21,1±6,3	23,4±9,0	48,5±15,8
CD8, %	12,3±5,1	29,4±9,7	39,1±15,4*
Адгезия нейтрофилов, %	41,2±7,6	48,6±10,7	49,8±15,8
Фагоцитоз нейтрофилов, %	37,2±7,5	47,8±10,6	57,5±15,6
CD95 нейтрофилы, %	34,1±7,3	21,5±8,8	12,1±10,3*
МДН, баллы	3,9±0,6	3,1±0,6	2,0±0,6*

* Достоверность $p < 0,05$ по сравнению с данными до лечения.

Характерной особенностью также явилось увеличение количества нулевых клеток CD56 ($p < 0,05$), уменьшение числа апоптотически измененных клеток CD95 ($p < 0,05$) и дегенеративно измененных нейтрофилов МДН ($p < 0,05$).

Назначение больным арглабина позволяет уменьшить явления депрессии кроветворения и восстановить нарушенные опухолью функции иммунных эффекторов, таких, как цитолиз антигенно-измененных клеток,

фагоцитоз патогенов, контроль процессов дифференцировки, и способствует снижению интенсивности эндогенной интоксикации и уменьшению степени ее повреждающего влияния на клетки иммунной системы.

В динамике проведения химиотерапии арглабином в комбинации с 5-фторурацилом отмечалось статистически достоверное увеличение нулевых клеток CD56 (табл. 4).

Таблица 4

Иммунологические показатели больных первичными карциномами печени в динамике проведения химиотерапии арглабином и 5-фторурацилом

Параметр	До лечения (n=42)	После 1-го курса (n=15)	После 3-го курса (n=12)
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	6,2±0,9	4,2±1,0	4,1±1,1
Лимфоциты, %	29,7±7,1	24,0±11,4	21,6±12,4
Нейтрофилы, абс.	4,2±0,6	3,9±1,0	4,1±1,1
Моноциты, %	5,9±3,6	5,7±5,6	5,2±5,1
Эозинофилы, %	2,6±2,4	1,8±1,6	2,2±2,0
CD3, %	36,9±7,5	49,8±13,4	50,1±15,1
CD20, %	16,2±5,7	15,9±9,8	17,9±11,5
CD56, %	38,9±7,5	46,5±13,3	74,1±13,2*
CD4, %	21,1±6,3	33,4±12,6	38,5±14,7
CD8, %	12,3±5,1	14,7±9,5	22,3±12,6
Адгезия нейтрофилов, %	41,2±7,6	47,5±13,3	49,9±15,1
Фагоцитоз нейтрофилов, %	37,2±7,5	44,6±13,3	53,4±15,0
CD95 нейтрофилы, %	34,1±7,3	28,5±12,1	21,3±15,1
МДН, баллы	3,9±0,6	3,1±0,8	2,0±0,5*

* Достоверность $p < 0,05$ по сравнению с данными до лечения.

При оценке морфологических признаков дегенерации нейтрофилов отмечалось их снижение в 1,9 раз по сравнению с уровнем до лечения ($p < 0,05$).

При проведении комбинированной терапии арглабином с 5-фторурацилом не усугубляет имеющиеся нарушения иммунного статуса больных первичными карциномами печени, после завершения 3-го курса явления иммунной недостаточности нивелировались, что проявилось снижением дегенеративных изменений морфофункциональных клеток и повышением числа нулевых клеток.

Исследование иммуномодулирующих свойств химиопрепаратов важно с точки зрения практического применения, т. к. применение этих препаратов может усиливать чувствительность опухоли к ПХТ, улучшать ее переносимость и усиливать противоопухолевый иммунитет.

Нормализация метаболических нарушений в организме больных, в свою очередь, уменьшает количество активных форм кислорода, которые могут повреждать иммунокомпетентные клетки, а усиление генерации оксида азота способствует уменьшению дегенеративных изменений в нейтрофилах.

Способность арглабина ограничивать нарушение биохимических процессов, снижать интенсивность эндогенной интоксикации, уменьшать степень ее повреждающего влияния на клетки иммунной системы и восстанавливать нарушенные опухолью функции иммунных эффекторов, таких, как цитоллиз антигенно-измененных клеток, контроль процессов дифференцировки, позволяет обосновать рациональность его применения больным диссеминированным первичным раком печени и создает возможность повышения качества их жизни.

ВЫВОДЫ

1. Применение арглабина в монотерапии и в комбинации с 5-ФУ ограничивает нарушение биохимических процессов и снижает степень интоксикации, что проявляется снижением уровня АДНФГ основного и нейтрального характера и содержания средних молекул эритроцитов.

2. Коррекция токсического эффекта при применении арглабина в комбинации с 5-ФУ сопровождается восстановлением иммунологических показателей (уменьшается число дегенеративных изменений в нейтрофилах, количество апоптически измененных клеток CD95, увеличивается количество CD20, CD56).

ЛИТЕРАТУРА

1. Гершанович М. Л. Современные проблемы химиотерапии рака. Эволюция — от эмпирического подхода до создания научной базы // Гедеон Рихтер в СНГ. — 2001. — Т. 1, № 5. — С. 32–35.

2. Груntenко Е. В. Иммуитет и возникновение злокачественных опухолей. — Новосибирск: Наука, 1977. — С. 272.

3. Звартау Э. Э., Медведев И. О. Симптоматическое лечение осложнений современной химиотерапии и текущего опухолевого процесса // Гедеон Рихтер в СНГ. — 2001. — Т. 1, № 5. — С. 52–57.

4. Ковалевский А. Н., Нифантьев О. Е. Замечания по скрининговому методу определения молекул средней массы // Лаб. дело. — 1989. — № 10. — С. 35–39.

5. Лебедев К. А., Полякина И. Д. Иммунограмма в клинической практике: Введ. в прикл. иммунологию / Под. ред. В. С. Авдеева. — М.: Наука, 1990. — 223 с.

6. Молчанов О. Е., Попова И. А., Козлов В. К. и др. Современные тенденции иммунотерапии злокачественных опухолей. — СПб., 2001. — 88 с.

7. Новик А. А., Цыган В. Н., Никитин В. Ю., Долгополова Е. В. Особенности иммунитета у больных лимфогранулематозом в процессе химиотерапии // Гедеон Рихтер в СНГ. — 2001. — Т. 5, № 1. — С. 45–47.

8. Савина Е. В., Слонимская Е. М., Кондакова И. В., Гарбуков Е. Ю. Антиоксидантная система и перекисное окисление липидов у больных с предопухолевыми заболеваниями и раком молочной железы // Рос. онкол. журн. — 2001. — № 1. — С. 18–23.

9. Сирота В. Б. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита в эритроцитах крови больных местно-распространенным раком молочной железы на фоне лучевой терапии // Медицина и экология. — 2000. — № 2. — С. 30–32.