

*Л.М. Гуніна**Н.К. Бердинських**С.В. Гоголь**Б.В. Сорокін**С.А. Олійник**Інститут онкології
АМН України**Інститут експериментальної
патології, онкології та
радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України, Київ, Україна***Ключові слова:** *карцинома
Герена, рак прямої кишки,
хіміотерапія, церулоплазмін,
прооксидантно-антиоксидантна
система, мембрани еритроцитів.*

ЗАСТОСУВАННЯ ЦЕРУЛОПЛАЗМІНУ ПРИ ПРОТИПУХЛИННІЙ ХІМІОТЕРАПІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ ТА КЛІНІЦІ

Резюме. На основі аналізу експериментальних та клінічних даних про вплив церулоплазміну на показники вільнорадикального окислення в еритроцитах і печінці, функціонального стану мембран еритроцитів, ендотоксикозу та анемії обґрунтована доцільність використання цього препарату під час хіміотерапії злоякісних пухлин.

ВСТУП

Відомо, що при протипухлинній хіміотерапії (ХТ) виникають різноманітні метаболічні зрушення в організмі, які не тільки погіршують стан пацієнтів, але й часто змушують переривати курс лікування [1, 2]. Майже всі відомі сьогодні протипухлинні препарати є високотоксичними [3–5], зумовлюючи активацію вільнорадикальних процесів як первинну ланку ендотоксикозу [6]. Тому не припиняється пошук препаратів супроводу, які, не змінюючи основної дії цитостатиків, здатні позитивно впливати на зміни метаболізму. В першу чергу до таких препаратів можна віднести антиоксиданти, детоксиканти, мембранопротектори.

Нашу увагу привернув препарат церулоплазмін (ЦП), який, до того ж, є основним існуючим в організмі антиоксидантом плазми крові людини [7]. Він функціонує в міжклітинному просторі і на поверхні клітинних мембран, разом з супероксиддисмутазою, каталазою та глутатіонпероксидазою регулюючи вільнорадикальні процеси в організмі. ЦП здатний позитивно впливати на різні ланки обміну речовин [8]. Виявлено його захисний вплив на мембрани еритроцитів при різного роду патології [9].

Мета дослідження — вивчення впливу ЦП на показники різних ланок метаболізму під час протипухлинної ХТ.

ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальна частина дослідження проведена на 24 щурах-самцях лінії Вістар масою тіла від 180 до 210 г з перещеплюваною карциномою Герена, яких утримували в умовах віварію ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького на стандартному раціоні з вільним споживанням води.

Тварини були розподілені на 4 групи (по 6 у кожній). До 1-ї з них увійшли інтактні тварини (контроль). Щурам 2, 3, 4-ї груп перещеплювали під шкіру правого боку карциномою Герена (по 0,5 мл 20% завесі пухлинних клітин). Тваринам 3-ї і 4-ї груп проводили ХТ за допомогою цисплатину, який вводили триразово внутрішньоочередово в добовій дозі 3 мг/кг через дві доби. Протипухлинну ХТ починали через 14 днів після перещеплення карциноми Герена. До 4-ї групи увійшли тварини, у яких проведення ХТ супроводжували застосуванням ЦП (триразово в добовій дозі 10 мг/кг). ЦП вводили на наступний день після застосування цисплатину. Матеріал для досліджень отримували по закінченні курсу протипухлинної терапії.

Клінічні дослідження проведені у 39 хворих (в середньому віком $51,3 \pm 4,5$ року) з рецидивами раку прямої кишки (РРПК) до початку та після закінчення внутрішньоартеріальної ХТ (ВАХТ) за схемою FAP (флуороурацил $0,8-1$ г/м², доксорубіцин 45 мг/м², цисплатин 70 мг/м², кальцій фолінат 160–200 мг/м²). Катетери для введення хіміопрепаратів встановлювали білатерально у внутрішні клубові артерії. Цитостатики вводили у дві артерії одночасно за допомогою дозатора лікарських речовин ДЛВ-1 протягом 4 год. Курс ВАХТ складався з 5 сеансів. Із 39 пацієнтів 27 увійшли до основної групи, 12 — до контрольної.

ЦП в основній групі застосовували в добовій дозі 0,2 г на 400 мл фізіологічного розчину натрію хлориду внутрішньовенно крапельно один раз на добу під час проведення ВАХТ.

Співставляли біохімічні показники у хворих основної та контрольної груп і 10 донорів. Токсичність запропонованої схеми ВАХТ у хворих обох груп оцінювали за шкалою ВООЗ.

Біохімічні дослідження включали вивчення антиоксидантної, антиоксидантної, мембранопротекторної та антианемічної дії ЦП.

В експериментальних тварин та хворих на РРПК визначали вміст в еритроцитах малонового діальдегіду (МДА) [10], відновленого глутатіону (ВГл) [11], концентрацію гемоглобіну (КГЕ) на гемоаналізаторі «Systemex-K 1000» (Японія), а також сорбційну здатність еритроциту (СЗЕ) [12] та сорбційну ємність глікокаліксу (СЄГ) [13]. В сироватці крові щурів і хворих на РРПК визначали рівень маркерів ендотоксикозу — середньомолекулярних пептидів (СМП) за методом [14]. Крім того, в експерименті на тваринах визначали вміст МДА [15] та ВГл [16] в печінці.

Результати обробляли статистично з використанням t-критерію Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що розвиток злоякісної пухлини в експериментальних тварин супроводжується активацією вільнорадикальних процесів: підвищенням вмісту МДА та зниженням рівня ВГл як в еритроцитах, так і в печінці, а також порушенням функціонального стану еритроцитарних мембран (табл. 1). Поряд з цим, в сироватці крові щурів з карциномою Герена накопичуються токсичні продукти метаболізму, про що свідчить підвищення концентрації СМП в 1,24 разу порівняно з такою в інтактних тварин. Вірогідного зниження КГЕ не відзначали (табл. 2).

Введення тваринам з пухлинами цисплатину призводить до активації процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в печінці, але супроводжується зниженням їх активності в еритроцитах (див. табл. 1). Водночас вміст ВГл у клітинах червоної крові та печінці знижується на 45,3 і 47,4% відповідно в основній і контрольній групах.

При сумісному застосуванні цисплатину та ЦП негативні зміни показників метаболізму виражені

значно менше. Зокрема підвищується вміст ВГл на 7,7 та 30,2% в еритроцитах і печінці відповідно, поліпшується функціональний стан еритроцитарних мембран, на 30,1% знижується рівень СМП в крові тварин, а також дещо підвищується КГЕ (див. табл. 1).

Підвищення під впливом ЦП вмісту ВГл, можливо, відображає поліпшення функцій печінки — одного з найважливіших органів природної детоксикації. Саме цим і пояснюється зниження концентрації маркерів ендотоксикозу в крові.

В клінічних дослідженнях отримані результати, аналогічні викладеним. В організмі хворих змінюються співвідношення деяких компонентів прооксидантно-антиоксидантної системи, порушується структурно-функціональний стан клітинних, в тому числі еритроцитарних, мембран, дещо знижується, на відміну від результатів експериментальних досліджень, вміст внутрішньоеритроцитарного гемоглобіну. Водночас відзначають прояви ендотоксикозу — накопичення СМП в крові (див. табл. 2). Проведення ХТ ще більш поглиблює виявлені метаболічні зміни.

Застосування ЦП у хворих основної групи під час проведення ХТ позитивно впливає на досліджені показники. В першу чергу відзначають виражений антиоксидантний ефект ЦП: вміст МДА в еритроцитах знижується на 57,3%, ВГл — підвищується на 24,1% порівняно з даними у хворих контрольної групи. Це супроводжується поліпшенням функціонального стану мембран еритроцитів та підвищенням КГЕ. Вміст маркерів ендотоксикозу в сироватці крові під впливом ЦП значно знижується (див. табл. 2).

Токсичність ВАХТ в основній групі у 12 (44,4%) пацієнтів була 0 ступеня (за шкалою ВООЗ), у 15 (55,6%) — I ступеня. Лейкопенія (кількість лейкоцитів менше $(2-3) \times 10^9/\text{л}$) встановлена лише у 3 хворих. В контрольній групі токсичність ВАХТ 0 ступеня відзначена в 1 (8,3%) хворого, I ступеня — у 9 (75,0%),

Таблиця 1

Вплив ЦП на біохімічні показники після застосування цисплатину у щурів з карциномою Герена

Показник	Група тварин			
	1-ша	2-га	3-тя	4-та
МДА в печінці (мкмоль/г тканини)	1,59 ± 0,17	2,22 ± 0,12*	3,02 ± 0,18**	1,63 ± 0,15***
МДА в еритроциті (нмоль/10 ⁶ ер.)	4,51 ± 0,20	6,72 ± 0,31*	7,83 ± 0,17**	5,30 ± 0,24***
ВГл в печінці (мкмоль/г тканини)	0,76 ± 0,03	0,33 ± 0,01*	0,40 ± 0,02**	0,63 ± 0,02***
ВГл в еритроциті (10 ⁻¹² ммоль/ер.)	0,772 ± 0,001	0,543 ± 0,003*	0,423 ± 0,005**	0,482 ± 0,004***
СМП (ум. од.)	0,340 ± 0,005	0,421 ± 0,004*	0,495 ± 0,006**	0,393 ± 0,007***
СЄГ (10 ⁻¹² г/ер.)	2,11 ± 0,04	4,33 ± 0,27*	3,09 ± 0,05**	2,89 ± 0,03***
СЗЕ (%)	16,13 ± 0,26	28,50 ± 0,77*	24,82 ± 0,47**	22,50 ± 0,31***
КГЕ (г/л)	374,0 ± 8,1	362,0 ± 5,8	372,0 ± 4,3	393,0 ± 7,9***

* p < 0,05 порівняно з показниками у тварин 1-ї групи; ** p < 0,05 — 2-ї групи; *** p < 0,05 — 3-ї групи.

Таблиця 2

Вплив ЦП на біохімічні показники у хворих на РРПК

Показник	Донори	Група хворих		
		до початку ПХТ	по закінченні ПХТ (контрольна)	по закінченні ПХТ (основна)
МДА (нмоль/10 ⁶ ер.)	3,67 ± 0,10	6,61 ± 0,19*	7,83 ± 0,28 [†]	5,36 ± 0,18**
ВГл (10 ⁻¹² ммоль/ер.)	1,768 ± 0,083	1,125 ± 0,042	0,654 ± 0,031	1,079 ± 0,035
СМП (ум. од.)	0,256 ± 0,007	0,321 ± 0,011*	0,306 ± 0,004 [†]	0,278 ± 0,006**
СЄГ (10 ⁻¹² г/ер.)	1,82 ± 0,12	3,21 ± 0,59*	4,26 ± 0,68 [†]	2,32 ± 0,25**
СЗЕ (%)	21,6 ± 2,4	35,6 ± 1,2*	41,7 ± 2,2 [†]	34,6 ± 1,3**
КГЕ (г/л)	351,67 ± 4,12	330,98 ± 2,14*	297,31 ± 3,26 [†]	346,25 ± 4,82**

* p < 0,05 порівняно з показниками у донорів; [†] p < 0,05 — у хворих до початку лікування; ** p < 0,05 — у хворих контрольної групи.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

II ступеня — у 2 (16,7%). Лейкопенія зареєстрована у 4 хворих.

Отже, отримані результати свідчать про позитивний вплив ЦП на біохімічні показники, що відображають стан прооксидантно-антиоксидантної системи, клітинних, в тому числі еритроцитарних, мембран, а також вираженість ендотоксикозу та анемії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой ВА, Сутковой ДА. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. Киев: Чернобыльинформ, 1997: 27—9.
2. Ніженковська ІВ, Чекман ІС, Олійник СА, Порало ІВ. Вплив суфану на енергетичний обмін та прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз печінки за рубоміцинової інтоксикації. Совр проблемы токсикологии 2000; (2): 21—3.
3. Олійниченко ПІ, Булкина ЗП, Синиборова ТІ. Справочник по химиотерапии опухолей. Киев: Здоров'я, 2000. 301 с.
4. Шалимов СА, Потєбня ГП, Волченкова ІІІ і др. Противоопухолевая активность и токсичность конъюгатов доксорубицина с трансферрином и альбумином в эксперименте. Укр хіміотерапевт журн 2000; 7(3): 65—8.
5. Late Sequeal in Oncology. Eds. Dunst J, Sauer R. Berlin-Heidelberg-N-Y: Springer-Verlag, 1995. 300 p.
6. Гунина ЛМ. Эндогенная интоксикация и ограниченный протеолиз на этапах лечения злокачественных образований [Автореф дис ... канд биол наук]. Киев: Институт онкологии и радиологии, 1998. 19 с.
7. Berdinskikh NK, Savtsova ZD, Sanina OL, et al. Antioxidant and immunomodulating action of ceruloplasmin under experimental influenza infection and chronic irradiation effect. Pharmacol Rev Commun 1997; 9: 217—22.
8. Бердинских НК, Волощенко ЮВ, Савцова ЗД и др. Иммуномодулирующее и антиоксидантное действие нового лекарственного препарата церулоплазмин. Имунол і алергол 1999; (3): 57—8.
9. Саенко ЕЛ, Скоробогатько ОВ, Мжельская ТИ и др. Защитное действие, оказываемое церулоплазмином, на эритроциты при гепатоцеребральной дистрофии. Биохимия 1989; 54 (10): 1617—22.
10. Банкова ВВ, Прищепова НФ, Авратинский ОИ. Способ оценки патологических изменений плазматической мем-

браны у детей при различных заболеваниях. Патол физиол и эксперим терапия 1987; (3): 78—81.

11. Зайцев ВГ, Закревский ВИ, Давыдов АИ и др. Уровень гипергликемии у больных сахарным диабетом. Клиническая лабораторная диагностика 1999; (11): 32—3.

12. Тогайбаев АА, Кургузкин АВ, Рикун ИВ. Способ диагностики эндогенной интоксикации. Лаб дело 1988; (9): 22—4.

13. Гунина ЛМ, Кабан АП, Коробко ВВ. Роль изменений структурно-функционального состояния мембраны эритроцита в развитии анемии у больных раком желудка. Онкология 2000; 2 (4): 247—9.

14. Габриелян НИ, Липатова ВИ. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей. Лаб. дело 1984; (3): 138—40.

15. Стальная ИД, Гаришвили ТГ. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. В: Современные методы в биохимии. Москва: Медицина, 1977: 66—8.

16. Кузьминская УА, Кокаровцева МГ, Овсянникова ЛМ и др. Определение содержания восстановленного глутатиона в печени. Биохимические, иммунологические и биофизические методы в токсикологическом эксперименте (методическое руководство). Москва: Изд-во I ММИ, 1989: 20—3.

USE OF CERULOPLASMIN IN CHEMOTHERAPY OF MALIGNANT NEOPLASMS IN EXPERIMENTS AND CLINICAL THERAPY

L.M. Gunina, N.K. Berdinskikh,
S.V. Gogol, B.V. Sorokin, S.A. Olyinikh

Summary. Based on the analysis of experimental and clinical findings of ceruloplasmin's influence on the events of free radical oxidation in erythrocytes and liver and its effect on the functional status of erythrocyte membrane, endogenous toxicity, and anemia, this drug is shown to be useful in the chemotherapy of malignant tumors.

Key Words: Guerin's carcinoma, rectal cancer, chemotherapy, ceruloplasmin, prooxidant-antioxidant system, erythrocyte membrane.