

УДК 618.11-006.6-085.277.3:615.382-036.8

ВЛИЯНИЕ ЛЕЧЕБНОГО ПЛАЗМАФЕРЕЗА В КОМПЛЕКСЕ НЕОАДЪВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ ЭРИТРОЦИТОВ И СОСТОЯНИЕ ИХ МЕМБРАН У БОЛЬНЫХ РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

Горошинская И.А., Неродо Г.А., Ушакова Н.Д., Мкртчян Э.Т., Шалашная Е.В., Сурикова Е.И., Немашкалова Л.А., Качесова П.С., Леонова А.В.

*ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт»
Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: rnioi@list.ru*

Представлены результаты сравнительного исследования содержания малонового диальдегида (МДА), активности антиоксидантных ферментов и показателей, характеризующих структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов крови больных распространенным раком яичников (РЯ), которым проводился лечебный плазмаферез (ПА) перед неоадъювантной полихимиотерапией (ПХТ), и больных РЯ, которым проводили только химиотерапевтическое лечение. У больных РЯ, прошедших только химиотерапевтическое лечение, на 2-е сутки после ПХТ происходит усиление окислительного стресса и текучести мембран эритроцитов, а через месяц после ПХТ – истощение окислительно-восстановительных процессов и усугубление дисфункции эритроцитарных мембран. Включение плазмафереза в комплекс противоопухолевого лечения способствовало снижению уровня ПОЛ, улучшению антиоксидантной защиты в эритроцитах и стабилизации мембран красных клеток крови на 2-е сутки после ПХТ и нормализации большинства изученных параметров до уровня здоровых доноров через месяц после лечения.

Ключевые слова: распространенный рак яичников, лечебный плазмаферез, неоадъювантная полихимиотерапия, перекисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты, структурно-функциональные характеристики мембран

EFFECT OF THERAPEUTIC PLASMAPHERESIS IN NEOADJUVANT POLYCHEMOTHERAPY COMPLEX ON OXIDATIVE METABOLISM OF ERYTHROCYTES AND STATE OF THEIR MEMBRANES IN PATIENTS WITH ADVANCED OVARIAN CANCER

Goroshinskaya I.A., Nerodo G.A., Ushakova N.D., Mkrtychyan E.T., Shalashnaya E.V., Surikova E.I., Nemashkalova L.A., Kachesova P.S., Leonova A.V.

*FSBI «Rostov Research Oncological Institute» of the Ministry of Health of Russia,
Rostov-on-Don, e-mail: rnioi@list.ru*

The results of a comparative study of malondialdehyde (MDA) content, activity of antioxidant enzymes and indicators characterizing structural and functional state of membranes of erythrocytes in patients having advanced ovarian cancer (OC), who underwent therapeutic plasmapheresis before neoadjuvant polychemotherapy (PCT), and in patients with OC treated with chemotherapy treatment only, were presented. Oxidative stress and erythrocyte membrane fluidity increased on the second day after PCT in patients with OC treated with chemotherapy treatment only; redox processes decreased and dysfunction of erythrocyte membranes intensified one month after PCT. Plasmapheresis inclusion into the complex of cancer treatment contributed to the decrease of lipid peroxidation level, improvement of antioxidant defense in erythrocytes, stabilization of membranes of red blood cells on the second day after PCT and normalization of most of the studied parameters up to the level of healthy donors one month after the treatment.

Keywords: advanced ovarian cancer, therapeutic plasmapheresis, neoadjuvant polychemotherapy, lipid peroxidation, antioxidant enzymes, structural and functional characteristics of membranes

В настоящее время рак яичников рассматривают в качестве наиболее агрессивной опухоли женских половых органов, в связи с тяжелым клиническим течением и высокой смертностью от данной патологии [9]. Как правило, рак яичников выявляется уже в распространенных стадиях, когда в организме больного имеют место глубокие нарушения гомеостаза, обусловленные опухолевой интоксикацией. При этом возможность проведения полного курса противоопухолевого лекарственного лечения зачастую ограничена, в силу нарастания явлений эндотоксикоза

после применения химиотерапии. Для решения этой проблемы нами предложено включение методики лечебного плазмафереза (ПА) в комплекс сопроводительной терапии перед проведением противоопухолевого лекарственного воздействия у больных раком яичников III–IV стадий, течение заболевания у которых сопровождалось формированием опухолевой интоксикации.

По современным представлениям, основными биологическими эффектами ПА являются детоксикация, иммуно- и рекоррекция. Кроме того, применение ПА может

служить модификатором химиотерапевтического лечения [4]. Поскольку одним из механизмов цитотоксического действия химиопрепаратов, используемых в лечении больных раком яичников, является активация свободнорадикальных процессов, а также учитывая тот факт, что большинство лекарственных веществ, распределяясь между тканями и органами через систему кровообращения, взаимодействуют с эритроцитами, несомненный интерес представляет исследование ближайшего и отсроченного влияния плазмафереза на структурно-функциональное состояние мембран красных клеток крови и параметры окислительного метаболизма эритроцитов в рамках предложенного способа лечения.

Цель исследования – изучить интенсивность процессов ПОЛ, состояние антиоксидантного статуса эритроцитов и показатели, характеризующие структурно-функциональное состояние их мембран при проведении лечебного плазмафереза в комплексе неoadьювантной полихимиотерапии у больных распространенным раком яичников на различных этапах обследования.

Материал и методы исследования

В исследование включено 62 женщины, больные раком яичников III–IV стадий, асцитной формой. Возраст больных находился в пределах 44–74 лет, 80% – были старше 50 лет. Пациентки были разделены на две группы методом случайного отбора. Всем проводилась неoadьювантная полихимиотерапия по схеме CAP. Больным основной группы – 32 человека, перед проведением химиотерапии применяли лечебный плазмаферез. Процедуру проводили аппаратом для аферезного лечения MCS + фирмы «Nemonetics» с использованием программы PPP (получение плазмы, обедненной лейкоцитами). Объем плазмоэкстракции составлял от 600 до 1200 мл. Замещение проводили коллоидными, кристаллоидными растворами и 20% альбумином в режиме 50% прецилиции.

Для оценки состояния ферментативного звена антиоксидантной системы в 1% гемолизатах эритроцитов определяли активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатионпероксидазы (ГПО) общепринятыми спектрофотометрическими методами [1]. Об интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) судили по накоплению молекулярного продукта – малонового диальдегида (МДА) [1]. Результаты представляли в пересчете на мг гемоглобина. Исследование структурно-функциональных показателей мембран эритроцитов проводили флюориметрически с использованием гидрофобного зонда пирена, оценивая текучесть мембран в области белок-липидных контактов и липидного бислоя, полярность липидной фазы и погруженность белков в липидный матрикс мембраны [6]. Перечисленные показатели определяли до начала лечения (при поступлении больных в стационар), после ПА, через 2 суток после завершения ПХТ и через 1 месяц после 1 курса ПХТ (перед вторым курсом противоопухолевого лечения). Полученные данные сопоставляли со значениями в группе доноров ($n = 33$) без онкопато-

логии, аутоиммунных, тяжелых хронических или психических заболеваний, сходных по возрастному и половому составу с группой больных РЯ. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета статистических программ «Statistica 6.0».

Результаты исследования и их обсуждение

Согласно полученным данным (табл. 1) до лечения у больных РЯ содержание МДА превышало нормативные значения на 21,7% в контрольной группе и на 25,2% в основной (табл. 1). При этом активность ферментов первой линии защиты СОД и каталазы была сниженной: в контрольной – на 22,1 и 11,7%, в основной группе – на 31,2 и 12,3% соответственно. В то же время активность ГПО была повышенной по сравнению с донорскими величинами: на 42,3% в контрольной группе и на 58,3% в основной группе (табл. 1). Значения всех показателей, характеризующих структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов, достоверно превышали норму в обеих группах больных РЯ (табл. 2). Текучесть мембран в липидном бислое была увеличена – на 67,5 и 51,8%, в зоне белок-липидных контактов – на 38,5 и 37%; погруженность белков в липидный матрикс – на 21,7 и 16,2%, полярность мембран на 4,2 и 3,8% ($p < 0,05–0,01$) соответственно в контрольной и основной группах.

После применения ПА у больных основной группы отмечалась нормализация большинства исследованных нами показателей (табл. 1, 2). Исключение составило значение текучести мембран эритроцитов в зоне белок-липидных контактов, превышавшее норму на 20,6%.

На 2-е сутки после химиотерапии у больных основной группы наблюдалась тенденция к увеличению содержания МДА на 24% относительно предыдущего этапа обследования, однако значения данного показателя находились в пределах нормы (табл. 1). Отмечена тенденция к снижению активности СОД в среднем на 12% относительно значений после ПА и в группе доноров. Активность каталазы по-прежнему не отличалась от нормативных величин, а активность ГПО, хотя и осталась на уровне значений после ПА, была выше значений у доноров на 30,7% (табл. 1). Текучесть мембран в зоне белок-липидных контактов оказалась повышенной, как и на предыдущем этапе обследования, а в липидном бислое возросла до уровня фоновых значений. Полярность мембран и погруженность белков в липидный матрикс не отличались от соответствующих величин в группе доноров (табл. 2).

Таблица 1

Содержание МДА и активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови больных распространенным раком яичников на этапах обследования

	Доноры	Фон до лечения		После ПА	2-е сутки после ПХТ		Через 1 месяц после лечения	
		Контроль-ная группа	Основная группа	Основная группа	Контроль-ная группа	Основная группа	Контроль-ная группа	Основная группа
МДА нМ/мл 1 % гемолизата	487,8±25,6	593,7±35,4 p<0,05	610,5±43,5 p<0,05	429,9±39,8 p ₂ <0,01	709,36±37,7 p<0,01 p ₂ <0,05	534,44±42,1 p ₁ <0,01 0,05<p ₃ <0,1	222,2±35,0 p<0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001	380,2±34,8 p<0,05 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001 p ₃ <0,01
СОД ед. актив./мг Нб	500,8±16,44	390,01±18,9 p<0,001	344,6±29,2 p<0,001	505,14±44,5 p ₂ <0,05	277,19±34,4 p<0,001 p ₂ <0,01	440,1±34,2 0,05<p<0,1 p ₁ <0,05 0,05<p ₂ <0,1	395,8±21,4 p<0,05 p ₃ <0,01	541,3±29,6 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,05
Каталаза мкМ Н ₂ О ₂ /мин·мг Нб	138,55±3,77	122,31±6,4 p<0,05	121,47±5,91 p<0,05	144,9±7,27 p ₂ <0,05	123,2±3,56 p<0,05	141,8±7,6 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	64,07±2,4 p<0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001	136,3±8,6 p ₁ <0,001
ГПО МЕ/мг Нб	243,5±23,0	346,43±26,0 p<0,01	385,65±27,2 p<0,01	301,85±18,5 0,05<p<0,1 p ₂ <0,05	187,77±12,7 p<0,01 p ₂ <0,05	318,24±26,7 p<0,05 p ₁ <0,01 0,05<p ₂ <0,1	198,95±16,2 p<0,05 p ₂ <0,001	256,6±18,8 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 0,05<p ₃ <0,1

Примечание: p – достоверность отличий по сравнению с донорами; p₁ – достоверность отличий по сравнению с контрольной группой; p₂ – достоверность отличий по сравнению с фоном до лечения; p₃ – достоверность отличий по сравнению с предыдущим этапом обследования.

Таблица 2

Структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов больных распространенным раком яичников на этапах обследования

	Доноры	Фон до лечения		После ПА	2-е сутки после ПХТ		Через 1 месяц после лечения	
		Контроль-ная группа	Основная группа	Основная группа	Контроль-ная группа	Основная группа	Контроль-ная группа	Основная группа
Белок/липидный контакт у.е.опт. плотности	0,403±0,012	0,558±0,053 p<0,01	0,552±0,047 p<0,01	0,486±0,015 p<0,001	0,692±0,054 p<0,001 0,05<p ₂ <0,1	0,495±0,034 p<0,05 p ₁ <0,01	0,743±0,069 p<0,001 p ₂ <0,05	0,422±0,03 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05
Липидный бислои у.е.опт. плотности	0,305±0,017	0,511±0,048 p<0,001	0,463±0,034 p<0,001	0,331±0,02 p ₂ <0,01	0,521±0,046 p<0,001	0,428±0,037 p<0,001 p ₃ <0,05	0,687±0,056 p<0,001 p ₂ <0,05 p ₃ <0,05	0,363±0,028 0,05<p<0,1 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05
Полярность у.е.опт. плотности	1,423±0,014	1,489±0,022 p<0,05	1,478±0,013 p<0,01	1,398±0,018 p ₂ <0,05	1,491±0,023 p<0,05	1,461±0,03 0,05<p ₃ <0,1	1,567±0,037 p<0,001 0,05<p ₂ <0,1 0,05<p ₃ <0,1	1,438±0,019 p ₁ <0,01 0,05<p ₂ <0,1
Погруженность у.е.опт. плотности	0,198±0,008	0,241±0,015 p<0,05	0,230±0,01 p<0,05	0,205±0,009 0,05<p ₂ <0,1	0,259±0,014 p<0,001	0,181±0,011 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01	0,257±0,006 p<0,001	0,196±0,012 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05

Примечание: p – достоверность отличий по сравнению с донорами; p₁ – достоверность отличий по сравнению с контрольной группой; p₂ – достоверность отличий по сравнению с фоном до лечения; p₃ – достоверность отличий по сравнению с предыдущим этапом обследования.

Проведение ПХТ больным контрольной группы привело к дальнейшему накоплению МДА – на 19,5% по сравнению с фоновыми значениями и на 45,4% по сравнению с донорскими. При этом значения данного показателя достоверно превышали значения в основной группе на 32,7% (табл. 1). Активность СОД после химиотерапии снизилась на 28,9% относительно фоновых величин и на 44,7% относительно нормативных значений. Также обнаружено ингибирование активности ГПО как по сравнению с фоном до лечения, так и с донорскими величинами – на 54,2 и 22,3% соответственно, активность каталазы оставалась по-прежнему пониженной. Следует отметить, что значения активности исследованных нами ферментов были достоверно ниже соответствующих величин в основной группе ($p < 0,05-0,01$) (табл. 1). Текучесть мембран эритроцитов в зоне белок-липидных контактов возросла на 24% по сравнению со значениями до ПХТ, превысив уровень в основной группе на 39,7%. Значения других структурно-функциональных показателей мембран не отличались от фоновых величин, оставаясь повышенными относительно нормы (табл. 2).

Через 1 месяц после лечения у больных контрольной группы содержание МДА оказалось резко сниженным – в 3,2 раза по сравнению с предыдущим этапом исследования и в 2,2 раза по отношению к величинам в группе доноров. Активность СОД несколько возросла, достигнув значений фона до лечения, активность ГПО осталась сниженной (на уровне значений после ПХТ), а активность каталазы резко упала – почти в 2 раза относительно фона до лечения и значений после химиотерапии, а также более чем в 2 раза по сравнению с нормативными величинами (табл. 1). Текучесть мембран эритроцитов в зоне белок-липидных контактов осталась высокой, превысив фоновые значения на 33,2%, а донорские на 84%. Возросла текучесть в липидном бислое – на 34,4% по сравнению с исходными величинами, оказавшись в 2,3 раза больше нормы. Отмечена тенденция к увеличению полярности мембран, а погруженность белков в липидный матрикс не отличалась от значений на предыдущих этапах обследования, превышая величины в группе доноров на 29,8% (табл. 2).

У больных, которым в составе сопроводительного лечения до ПХТ проводился лечебный ПА, через месяц после лечения также как и у больных контрольной группы, отмечено снижение содержания МДА не только по сравнению с уровнем 2-х суток после химиотерапии, но и относительно

нормативных величин – на 28,9 и на 22% соответственно. Однако значения данного показателя были на 71% выше, чем в группе контроля (табл. 1). Наблюдалось возрастание до уровня доноров активности антиоксидантных ферментов СОД и ГПО и нормализация структурно-функциональных параметров мембран эритроцитов (табл. 2).

Результаты исследования свидетельствуют о том, что окислительный метаболизм эритроцитов больных асцитной формой рака яичников характеризуется интенсификацией процессов ПОЛ на фоне несбалансированного функционирования антиоксидантных ферментов. Снижение активности СОД и каталазы, на фоне усиления работы ГПО указывает на снижение резистентности эритроцитарных мембран к переоислению [2]. Это согласуется с полученными нами данными, свидетельствующими о дестабилизации мембран красных клеток крови у больных РЯ.

Проведение химиотерапии больным РЯ способствовало нарастанию процессов липопероксидации, что обусловлено индукцией применяемыми химиопрепаратами активных форм кислорода и, как следствие, окислительного стресса, лежащих в основе их противоопухолевого действия. Интенсификация свободнорадикальных процессов, в свою очередь, привела к ингибированию активности СОД и ГПО и увеличению текучести эритроцитарных мембран в зоне белок-липидных взаимодействий. Через месяц после ПХТ наблюдалось резкое падение уровня ПОЛ и не происходило восстановления функций ферментов-антиоксидантов, что свидетельствует об истощении адаптационно-компенсаторных возможностей организма больных. Более того, отмечалось выраженное снижение активности каталазы, которой, как считается, принадлежит ключевая роль в защите эритроцитов от окислительного повреждения [10]. Это, по всей видимости, привело к усугублению дезорганизации эритроцитарных мембран, что выражалось в увеличении текучести (как в липидном бислое, так и в зоне белок-липидных взаимодействий), обеспечивающей регуляцию всех процессов, протекающих в клеточных мембранах, включая ответ на химиотерапевтическое воздействие [7].

Проведение процедуры ПА перед противоопухолевым лекарственным лечением способствовало меньшей интенсификации ПОЛ, восстановлению сбалансированности в функционировании ферментов первой линии антиоксидантной защиты, не столь выраженной деструкции мембран на 2-е сутки после ПХТ по сравнению с больными контрольной группы, и нормализации

большинства исследованных показателей через 1 месяц после лечения. Сходные результаты получены при применении эфферентных методов воздействия в лечении других заболеваний [3].

Заключение

Таким образом, применение лечебного плазмафереза в комплексе сопроводительной терапии перед проведением неоадвантанной ПХТ оказывает выраженное положительное корригирующее влияние на параметры окислительного метаболизма эритроцитов и структурно-функциональное состояние мембран красных клеток крови больных распространенным раком яичников. Полученные нами результаты могут быть обусловлены как общей реакцией организма на удаление плазмы [8], так и антиоксидантным эффектом плазмафереза [5]. Применение плазмафереза способствует сохранению адаптационных резервов организма больных распространенным раком яичников после проведения химиотерапевтического лечения, о чем свидетельствуют полученные нами результаты через 1 месяц после комплексного воздействия.

Список литературы

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиокси-

дантной системы организма: методические рекомендации. – СПб.: ИКФ «Фолиант», – 2000. – 104 с.

2. Верболович В.П., Подгорный Ю.К., Подгорная Л.М. Показатели резистентности эритроцитов человека к окислительному стрессу // Вопр. мед. химии. – 1989. – № 5. – С. 35–39.

3. Влияние плазмафереза на процессы липопероксидации, антиокислительной защиты и эндогенной интоксикации у больных псориазом / В.В. Байтяков, Н.В. Кунгуров, Н.Н. Филимонкова, А.Н. Чудайкин // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 4. – С. 247–251.

4. Воинов В.А. Эфферентная терапия. Мембранный плазмаферез. – 5-е изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Новостиг», – 2010. – 368 с.

5. Грицак Е.Е., Рогожина И.Е. Влияние плазмафереза на системные метаболические расстройства при токсикозе I половины беременности // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 9. – С. 37–39.

6. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. – М., 1989. – 276 с.

7. Новицкий В.В., Степовая Е.А., Гольдберг В.Е., Колосова М.В. Структурно-метаболический статус и функциональное состояние эритроцитов у онкологических больных // Паллиативная медицина и реабилитация. – 2000. – № 1–2. – С. 80.

8. Пиксин И.Н., Федосейкин И.В., Бякин С.П. Квантовые и эфферентные методы лечения в хирургии. – М.: Наука, 2010. – 248 с.

9. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2008 году (заболеваемость и смертность). – М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Росмедтехнологий», 2010. – 256 с.

10. Nagababu E., Chrest F.J., Rifkind J.M. Hydrogen-peroxide-induced heme degradation in red blood cells: the protective roles of catalase and glutathione peroxidase // Biochim Biophys Acta. – 2003. – Vol. 1620, № 1–3. – P. 211–217.