

ПРОТИВОБЛАСТОМНЫЕ СРЕДСТВА

ВЛИЯНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ НА СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СТАТУС И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С ОПУХОЛЯМИ ГОЛОВЫ И ШЕИ

Е. А. Степовая¹, В. В. Новицкий^{1,2}, В. Е. Гольдберг³, Н. В. Рязанцева¹,
С. Б. Ткаченко⁴, М. В. Колосова¹

Проведено изучение структурно-метаболического статуса и функциональных свойств эритроцитов у больных с опухолями головы и шеи III – IV стадий в динамике противоопухолевой полихимиотерапии (платидиам, 5-фторурацил, метотрексат). Установлено, что в ходе лечения цитостатическими препаратами нарушения морфо-функционального состояния эритроцитов (снижение величины сухой массы эритроцитов, уменьшение в них концентрации сульфгидрильных групп и липопротеинов, возрастание числа трансформированных форм клеток, клеток с нарушениями ультраструктуры, усиление способности эритроцитов к обратимой агрегации) сохранялись или прогрессировали.

Ключевые слова: противоопухолевая полихимиотерапия, опухоли головы и шеи, эритроцит

ВВЕДЕНИЕ

Современная терапия опухолей, включающая химиотерапию, хирургическое лечение, лучевую терапию, трансплантацию костного мозга, сопровождается увеличением числа больных, длительно живущих или выздоровевших. При этом значение нарушений со стороны периферического звена эритроцитов у онкологических больных часто недооценивается, хотя именно они нередко становятся причиной неудовлетворительного качества жизни больного [1, 3, 4]. Так, нарушения эритропоэза могут приводить к ограничению резервных возможностей эритроцитов и развитию анемических состояний в отдаленные сроки после окончания лечения. Особенно полезную информацию при изучении морфологического и функционального состояния периферического звена эритроцитов можно получить, используя комплекс современных методов исследования, позволяющих обнаружить изменения метаболизма и функций эритроцитов в период, предшествующий лабораторно регистрируемому признаку анемии [9 – 11, 15]. Целью настоящей работы явилось изучение влияния противоопухолевой полихимиотерапии по схеме, включающей платидиам, 5-фторурацил и метотрексат, на структурно-метаболический статус и функциональ-

ные свойства эритроцитов периферической крови у больных с опухолями головы и шеи.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 39 больных с опухолями головы и шеи III – IV стадий (все мужчины в возрасте от 42 до 67 лет). Диагноз в каждом случае был установлен на основании клинических данных и результатов инструментальных методов обследования с обязательным морфологическим подтверждением. Обследование проводили до начала и в динамике проведения противоопухолевой химиотерапии по схеме: платидиам по 100 мг/м² – 1 день внутривенно на фоне гипергидратации, 5-фторурацил по 1000 мг/м² — с 1-го по 5-й день внутривенно с использованием дозатора, метотрексат по 7 мг/м² – с 1-го по 5-й день внутривенно. Длительность цикла лечения цитостатиками составляла 5 дней, интервал между циклами — 4 нед. Программа лечения включала 2 цикла полихимиотерапии с последующим переводом больных на лучевую терапию. Гематологическое обследование пациентов с опухолями головы и шеи проводили до начала и после окончания каждого из двух курсов лечения цитостатическими препаратами. Материалом исследования являлась периферическая кровь обследованных лиц.

Количественное определение сульфгидрильных групп и липопротеинов в эритроцитах проводили методом цитофотометрии. Для выявления SH-групп мазки крови окрашивали по методу M. Chevremont, J. Frederick [14], для выявления липопротеинов — по методу M. Barenbaum [13]. Определение величины сухой массы эритроцитов проводили методом интерферометрии [6]. Образцы для сканирующей электронной микроскопии готовили по методике Г. И. Козинца и Ю. А. Симоварта [7]. Для количественной характеристики клеток красной крови с различным типом рельефа поверхности производили подсчет 1000 клеток от каждого обследованного, используя классификацию Г. И. Козинца и Ю. А. Симоварта [7]. Особенности ультраструктуры эритроцитов периферической крови изучали на ультрамикроскопических срезах методом трансмиссионной электронной микроскопии [5]. Определение показателей обратимой агрегации эритроцитов в микрообъемах крови проводили вибрационным фотометрическим способом [12]. Определяли показатели обратимой агрегации эритроцитов, характеризующие: U_0 — мини-

¹ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, 634050, Московский тракт, 2;

² НИИ фармакологии Томского научного центра СО РАМН, Томск, 634028, пр. Ленина, 3;

³ НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН, Томск, 634028, пер. Савиных 12/1;

⁴ Российская медицинская академия последипломного образования, Москва, 123836, ул. Баррикадная, 2.

Таблица 1. Концентрация сульфгидрильных групп и липопротеинов (в усл.ед.) и показатели сухой массы (в пг) эритроцитов периферической крови у больных с опухолями головы и шеи до и в процессе полихимиотерапии по схеме, включающей платидиам, 5-фторурацил и метотрексат ($\bar{X} \pm m$)

Группа обследованных	Сульфгидрильные группы	Липопротеины	Сухая масса
Здоровые доноры	0,351 ± 0,007	0,885 ± 0,036	36,67 ± 0,21
Больные с опухолями головы и шеи до химиотерапии	0,281 ± 0,012 $p_1 < 0,001$	0,787 ± 0,026 $p_1 > 0,2$	35,17 ± 1,01 $p_1 < 0,05$
после 1-го курса химиотерапии	0,261 ± 0,017 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,2$	0,772 ± 0,039 $p_1 > 0,1$ $p_2 > 0,5$	33,12 ± 1,14 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,2$
до начала 2-го курса химиотерапии	0,266 ± 0,033 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,5$	0,633 ± 0,055 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$	32,91 ± 0,084 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,1$
после 2-го курса химиотерапии	0,206 ± 0,025 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$	0,359 ± 0,036 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	31,69 ± 0,38 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,02$

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: p_1 — достоверность различий по сравнению с аналогичными показателями у здоровых лиц, p_2 — по сравнению с показателями у нелеченных больных с опухолями головы и шеи.

мальную механическую прочность агрегатов эритроцитов (В); U_d — максимальную механическую прочность агрегатов эритроцитов (В); τ — полупериод спонтанной агрегации эритроцитов (с) и A — амплитуду фотометрического сигнала, характеризующую количество эритроцитов, участвующих в процессе обратимой агрегации (мм). На основании измеренных значений показателей обратимой агрегации эритроцитов расчетным путем определяли индекс агрегации $J_a = U_d/\tau$ (усл.ед.), характеризующий соотношение агрегационных и дезагрегационных процессов, а также интегральный коэффициент агрегации $K = U_0 U_d A/\tau$ (усл.ед.). Достоверность различий между сравниваемыми группами устанавливали с использованием t -критерия Стьюдента в случае, когда распределения подчинялись нормальному закону, а в случае отклонения распределений от нормального-непараметрических критериев (U-критерий Манна – Уитни, критерий Ван-дер-Вардена).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Цитофотометрическое исследование эритроцитов периферической крови у больных с опухолями головы и шеи, получавших лечение по схеме, включающей платидиам, 5-фторурацил и метотрексат, выявило перестройку структуры эритроцитарной популяции по содержанию тиоловых групп и липопротеинов на протяжении всего периода наблюдения. При этом достоверное ($p < 0,05$) снижение среднего уровня сульфгидрильных групп по сравнению с соответствующим показателем у пациентов с опухолями головы и шеи до начала лечения отмечалось у больных после окончания 2-го курса полихимиотерапии (табл. 1). Наряду с этим в зрелых циркулирующих эритроцитах регистрировалось достоверное снижение концентрации липопротеинов до начала и после окончания 2-го курса лечения цитостатиками по сравнению с аналогичными показателями у нелеченных больных с опухолью и здоровых лиц (табл. 1).

Интерферометрическое исследование показало, что полихимиотерапия приводила у больных с опухолями головы и шеи к еще более выраженным изменениям в содержании плотных веществ (в основном представленных гемоглобином) в эритроцитах периферической

крови и характере распределения клеток по этому показателю по сравнению с таковым у нелеченных пациентов (табл. 1). При этом различия между средними величинами сухой массы эритроцитов у больных с опухолью до лечения и после 2-го курса химиотерапии оказались статистически значимыми ($p < 0,02$). Индивидуальные средние величины сухой массы клеток красной крови у больных после 2-го курса лечения варьировали в пределах 30,9 – 32,73 пг (у нелеченных пациентов — 31,14 – 36,52 пг). По сравнению с аналогичными показателями у здоровых лиц средние значения концентрации сульфгидрильных групп и величины сухой массы эритроцитов у больных с опухолями головы и шеи были достоверно снижены на протяжении всего периода наблюдения (табл. 1).

Цикловая полихимиотерапия у больных с опухолями головы и шеи усугубляла существующие у нелеченных пациентов нарушения формы и поверхностной архитектоники эритроцитов периферической крови, что проявлялось в уменьшении содержания двояковогнутых дискоцитов и увеличением числа обратимо и необратимо трансформированных форм клеток (табл. 2). После окончания 2-го курса полихимиотерапии у больных с опухолями головы и шеи регистрировалось достоверное снижение количества двояковогнутых дискоцитов ($p < 0,05$) и возрастание содержания предгемолитических форм клеток ($p < 0,01$) по сравнению с соответствующими показателями у нелеченных пациентов. Отмеченное увеличение уровня предгемолитических форм эритроцитов у больных с опухолями головы и шеи после окончания 2-го курса химиотерапии было обусловлено в основном возрастанием числа куполообразных (до $1,79 \pm 0,09\%$, $p < 0,05$) и сферических (до $2,96 \pm 0,10\%$, $p < 0,01$) эритроцитов по сравнению с аналогичными величинами ($1,41 \pm 0,14$ и $2,5 \pm 0,08\%$ соответственно) у пациентов с опухолью до начала лечения цитостатиками. Показатели соотношения внут-

Таблица 2. Морфологическая характеристика эритроцитов периферической крови (по данным сканирующей электронной микроскопии) у больных с опухолями головы и шеи до и в процессе полихимиотерапии по схеме, включающей платинидам, 5-фторурацил и метотрексат ($\bar{X} \pm m$)

Группа обследованных	Морфологические формы эритроцитов, %				Соотношение внутреннего и внешнего диаметров эритроцитов, %
	Дискоциты	Переходные	Предгемолитические	Дегенеративные	
Здоровые доноры	87,04 ± 0,22	10,65 ± 0,18	2,18 ± 0,05	0,13 ± 0,01	44,22 ± 0,41
Больные с опухолями головы и шеи до химиотерапии	80,44 ± 1,11 $p_1 < 0,001$	13,79 ± 0,79 $p_1 < 0,001$	4,82 ± 0,26 $p_1 < 0,001$	0,95 ± 0,12 $p_1 < 0,001$	54,45 ± 0,67 $p_1 < 0,001$
после 1-го курса химиотерапии	78,03 ± 1,29 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,1$	15,31 ± 0,88 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,2$	5,50 ± 0,30 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,1$	1,16 ± 0,15 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,2$	50,69 ± 0,40 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
до начала 2-го курса химиотерапии	78,95 ± 1,09 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,2$	14,53 ± 0,69 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,2$	5,34 ± 0,32 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,2$	1,18 ± 0,17 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,2$	50,79 ± 0,27 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
после 2-го курса химиотерапии	76,24 ± 1,16 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$	16,47 ± 0,99 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	6,09 ± 0,18 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$	1,20 ± 0,10 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,1$	49,98 ± 0,44 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

ренного и внешнего диаметров эритроцитов у больных с опухолями головы и шеи на всех этапах химиотерапии были достоверно ниже соответствующих значений у нелеченных больных с опухолью и выше аналогичного показателя у здоровых лиц (табл. 2).

По данным трансмиссионной электронной микроскопии проведение двух курсов полихимиотерапии вызывало у пациентов с опухолями головы и шеи увеличение числа эритроцитов с экзовезикулами и белками в примембранном пространстве (в 1,3 и 8,4 раза соответственно) по сравнению с соответствующими показателями у нелеченных пациентов. При этом у больных с опухолями головы и шеи до начала лечения содержание эритроцитов с белками в примембранном пространстве не отличалось от аналогичного показателя у здоровых лиц, количество же клеток с экзо-, эндозезикулами и отслоением мембраны от стромы превы-

шало их содержание в норме (в 2,9; 2,2 и 7,3 раза соответственно).

Изучение агрегационной способности эритроцитов у больных с опухолями головы и шеи в динамике проведения противоопухолевой полихимиотерапии выявило увеличение величин минимальной и максимальной прочности агрегатов эритроцитов, а также интегрального коэффициента и индекса агрегации при одновременном снижении величины полупериода спонтанной агрегации (табл. 3). Усиление способности эритроцитов к обратимой агрегации у больных с опухолями головы и шеи сохранялось на протяжении всего периода наблюдения.

Действие противоопухолевых препаратов сопровождается усилением процессов перекисного окисления липидов, изменениями в антиокислительной системе, накоплением в эритроцитах ионов кальция, активацией фосфолипаз и протеаз, что приводит к нару-

Таблица 3. Показатели обратимой агрегации эритроцитов периферической крови у больных с опухолями головы и шеи до и в процессе полихимиотерапии по схеме, включающей платинидам, 5-фторурацил и метотрексат ($\bar{X} \pm m$)

Группы обследованных	U_0 , В	U_d , В	A , мм	τ , с	K , усл.ед.	J_a , усл.ед.
Здоровые доноры	13,43 ± 0,51	79,00 ± 3,74	29,17 ± 0,76	37,93 ± 2,75	1184,44 ± 151,22	2,75 ± 0,30
Больные с опухолями головы и шеи до химиотерапии	16,50 ± 1,67 $p_1 > 0,05$	84,60 ± 10,05 $p_1 > 0,5$	35,80 ± 3,46 $p_1 < 0,05$	13,60 ± 1,33 $p_1 < 0,01$	4298,28 ± 1526,93 $p_1 < 0,01$	6,61 ± 1,37 $p_1 < 0,01$
после 1-го курса химиотерапии	21,40 ± 3,19 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,2$	134,60 ± 13,43 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$	31,20 ± 2,48 $p_1 > 0,2$ $p_2 > 0,2$	16,00 ± 4,53 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,5$	7543,38 ± 1700,84 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,1$	10,97 ± 2,19 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,1$
до начала 2-го курса химиотерапии	25,50 ± 5,92 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,1$	138,70 ± 20,62 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$	28,00 ± 1,01 $p_1 > 0,5$ $p_2 > 0,05$	14,80 ± 2,40 $p_1 < 0,01$ $p_2 > 0,5$	10291,53 ± 5390,70 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,2$	11,49 ± 3,61 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,2$
после 2-го курса химиотерапии	33,00 ± 8,74 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,1$	128,20 ± 22,30 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,1$	26,60 ± 3,43 $p_1 > 0,2$ $p_2 > 0,05$	15,60 ± 2,48 $p_1 < 0,01$ $p_2 > 0,2$	8994,07 ± 3853,50 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,2$	10,51 ± 3,87 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,2$

шениям структуры мембран, метаболизма, ионного гомеостаза клеток и, в дальнейшем, их формы и функции [2, 8, 11]. Изменения структурно-метаболического статуса и функционального состояния эритроцитов связаны как с влиянием цитостатических препаратов на циркулирующие клетки, так и с воздействием цитостатиков на эритроциты костного мозга, что подтверждается результатами проведенного нами интерферометрического исследования (увеличение количества эритроцитов, мало насыщенных гемоглобином). Значение эритроцитов в организме не исчерпывается газотранспортной функцией, поэтому возникающие в условиях химиотерапии изменения структуры и функции клеток красной крови различной степени зрелости могут приводить к нарушению процессов, связанных с поддержанием гомеостаза на уровне целого организма.

ВЫВОДЫ

1. Развитие процесса у больных с опухолями головы и шеи сопровождается выраженными нарушениями структурно-метаболического статуса и функциональных свойств эритроцитов.

2. Проведение протвоопухолевой полихимиотерапии по схеме, включающей платидиам, 5-фторурацил и метотрексат у больных с опухолями головы и шеи сопровождается снижением величины сухой массы клеток, уменьшением в них концентрации сульфгидрильных групп и липопротеинов на фоне увеличения количества трансформированных форм клеток, а также клеток с нарушенной ультраструктурой, что приводит к возрастанию числа функционально неполноценных эритроцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. А. Волкова, А. Д. Ширин, *Гематол. и трансфузиол.*, **42**(6), 33 – 36 (1997).
2. Р. Геннис, *Биомембраны: Молекулярная структура и функции*, Мир, Москва (1997).
3. М. Л. Гершанович, М. А. Акимов, *Вопр. онкологии*, **45**(4), 438 – 440 (1999).
4. В. М. Городецкий, *Гематол. и трансфузиол.*, **43**(1), 11 – 15 (1998).
5. В. Я. Карупу, *Электронная микроскопия*, Вища школа, Киев (1984).
6. Г. И. Козинец, И. А. Быкова, Т. А. Мамедова и др., *Метод интерферометрии в гематологии. Методические рекомендации*, Москва (1980).
7. Г. И. Козинец, Ю. А. Симоварт, *Поверхностная архитектура клеток периферической крови в норме и при заболеваниях системы крови*, Валгус, Таллин (1984).
8. В. В. Новицкий, Е. А. Степовая, В. Е. Гольдберг и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **62**(5), 28 – 30 (1999).
9. В. В. Новицкий, Е. А. Степовая, В. Е. Гольдберг и др., *Эритроциты и злокачественные новообразования*, STT, Томск (2000).
10. Н. В. Рязанцева, В. В. Новицкий, Е. А. Степовая и др., *Бюл. экспер. биол.*, **135**(1), 33 – 36 (2003).
11. Е. А. Степовая, *Механизмы нарушений структурно-метаболического статуса и функциональных свойств эритроцитов у больных со злокачественными новообразованиями*, Дис. докт. мед. наук, Томск (1999).
12. Р. Т. Тухватуллин, В. А. Левтов, В. Н. Шуваева, Н. Х. Шадрина, *Физиол. журнал СССР им. Сеченова*, **72**(6), 775 – 784 (1986).
13. М. С. Barenbaum, *Nature*, Lond, **174**, 190 – 195 (1956).
14. M. Chevremont and J. Frederick, *Arch. Biol. Liege*, **54**, 589 – 593 (1943).
15. А. Н. Villalon, L. M. Gurman, M. C. Samson. et al., *Oncology*, **54**(1), 2 – 6 (1997).

Поступила 08.09.03

THE EFFECT OF ANTITUMOR POLYCHEMOTHERAPY ON THE STRUCTURAL, METABOLIC, AND FUNCTIONAL STATUS OF ERYTHROCYTES IN PATIENTS WITH HEAD AND NECK TUMORS

E. A. Stepovaya¹, V. V. Novitskii^{1,2}, V. E. Gol'dberg³, N. V. Ryazantseva¹, S. B. Tkachenko⁴, and M. V. Kolosova

¹ Siberian State Medical University, Moskovskii trakt 2, Tomsk, 634050 Russia

² Institute of Pharmacology, Tomsk Scientific Center, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences, pr. Lenina 3, Tomsk, 634028 Russia

³ Institute of Oncology, Tomsk Scientific Center, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences, per. Savinykh 12/1, Tomsk, 634028 Russia

⁴ Russian Medical Academy of Post-Graduate Education, ul. Barrikadnaya 2, Moscow, 123863 Russia

The structure, metabolic status, and functional properties of erythrocytes in patients with stage III – IV head and neck tumors in the course of antineoplastic cytostatic chemotherapy (platidiam, 5-fluorouracil, methotrexate) were studied. In the course of this treatment, disorders of the morphology and functional state of erythrocytes (reduced dry mass, decreased content of sulfohydryl groups and lipoproteins, increased number of transformed cells and the cells with violated ultrastructure, enhanced reversible aggregation of erythrocytes) were retained or became more pronounced.