

© І.Ф. Хурані

ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ ТА ТІОТРІАЗОЛІНУ НА ПОСТХІМІО-ПРОМЕНЕВИЙ ПНЕВМОФІБРОЗ У ХВОРИХ НА РАК ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ З МУТАЦІЯМИ ГЕНА МЕТИЛЕНТЕТРАГІДРОФОЛАТРЕДУКТАЗИ

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова, м. Вінниця, Україна

Реферат. Вивчено вплив мутації гена метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) на розвиток пневмофіброзу у хворих на рак грудної залози, індукованого хіміопроменевим впливом. Розглянуті можливості профілактики фіброзу легень шляхом застосування кверцетину та тіотріазоліну. Встановлено, що у хворих з мутаціями гена MTHFR за гомозиготним (Т677Т) типом, що отримували хіміо-промене лікування, протягом першого року розвивається фіброз легень у 100% випадків, у хворих з мутаціями за гетерозиготним типом (С677Т) – у 30%, а у хворих без мутації, з генотипом (С677С) – лише в 9%. Застосування в якості протекторів кверцетину та тіотріазоліну значно ослаблює негативний вплив мутацій гена MTHFR на легеневу тканину, дозволяє попередити розвиток пневмофіброзу, значно покращує показники зовнішнього дихання і сатурації кисню, зменшує запальні явища в легенях.

Ключові слова: рак грудної залози, постхіміопроменевий пневмофіброз, метилентетрагідрофолатредуктаза, кверцетин, тіотріазолін.

Лікування раку грудної залози неможливо уявити без хіміопроменевої терапії. Але ефективність цього методу часто обмежена високою агресивністю та великою кількістю побічних ефектів і ускладнень, серед яких легеневі пошкодження (пульмоніти, альвеоліти, склероз і фіброз легень) займають одне з чільних місць [1]. Ускладнення збоку дихальної системи призводять до значного погіршення якості життя хворих, а іноді – до інвалідизації і навіть смерті [2]. Все це диктує необхідність пошуку ефективних методів прогнозування і профілактики таких ускладнень [5].

Відомо, що хіміопромене лікування за стандартними схемами далеко не в усіх хворих викликає легеневі пошкодження. Очевидно це зумовлено генетично детермінованими параметрами дихальної системи та її різною резистентністю до травмуючих факторів [3].

Велике зацікавлення в цьому аспекті викликає мутація гена метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR) – ферменту, що відіграє важливу роль у метаболізмі фолієвої кислоти і в процесі метилювання ДНК. Дефіцит MTHFR сприяє мутагенному пошкодженню ДНК з інактивацією багатьох клітинних генів [6]. Відомо близько двох десятків мутацій гена MTHFR, що порушують функцію ферменту. Досить поширеним у пред-

ставників північноамериканської та європейської раси є варіант, в якому нуклеотид цитозин (С) у позиції 677 замінений тимідином (Т). Такий поліморфізм MTHFR позначається як мутація С677Т, або С/Т. Генотип С/Т або Т/Т спостерігається у європейців в 62-72% випадків. Для осіб з генотипом (Т/Т) характерне суттєве зниження активності MTHFR, що часто призводить до різних захворювань: розумове та фізичне відставання в розвитку, судинні захворювання, діабет, рак та інші [7]. У носіїв двох алелів Т/Т (гомозиготний стан) особливо високий ризик розвитку побічних ефектів при прийомі лікарських препаратів, що використовуються в хімотерапії раку. Куріння посилює вплив мутації, а корекція дієти, застосування вітамінів та антиоксидантів може послабити її негативні наслідки [4].

Метою дослідження було вивчити вплив антиоксидантів кверцетину та тіотріазоліну на розвиток постхіміопроменевого пневмофіброзу у хворих на рак грудної залози з мутаціями гена MTHFR.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В дослідженні взяли участь 72 хворих репродуктивного віку (47,9±8,5 років) з I-II стадією раку грудної залози, які отримували комбінова-

не (хіміопроменеве) лікування у Вінницькому ОКОД протягом 2009-2010 рр. Хворі були розділені на дві групи: А – контрольна (41 пацієнтка), в якій проводилась поліхіміотерапія за схемою CMF (cyclophosphamide – 200 мг/м², methotrexate – 80 мг/м², fluorouracil – 1200 мг/м²) та телегамма-терапія за радикальною програмою (СОД – 45 Гр.); В – клінічна (31 пацієнтка), в якій на тлі хіміопроменевого лікування отримували кверцетин по 10 мг/кг перорально та тіотріазолін по 2,0 мл 1% розчину в/м три рази на добу. Усім хворим проводилась СКТ на томографі HiSpeed Dual (Китай), визначалась функція зовнішнього дихання за допомогою цифрового спірографа winspiro PRO (Італія), пульсоксиметрія проводилась на пульсоксиметрії Ютасокси-201 (Україна). Геному ДНК виділяли з лейкоцитів периферійної крові за допомогою реагенту «ДНК-експрес-кров». Поліморфну ділянку С677Т гена метилентетрагідрофолатредуктази ампліфікували методом полімеразної ланцюгової реакції з використанням алей-специфічних олігонуклеотидних праймерів (ЛиТех, Росія). Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі “Терцик” („ДНК-Технологія”, Росія). Продукти ампліфікації виявляли за допомогою електрофорезу в 3% агарозному гелі при напрузі 10-15 V на 1 см гелю. Гелі фарбували етидіумом

бромідом з наступною візуалізацією результатів в УФ-світлі.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

При проведенні генетичного аналізу у хворих на рак грудної залози було виявлено гомозиготний (С/С) поліморфізм гена МТНFR у 23 пацієнток контрольної і 7 пацієнток клінічної групи. Мутація МТНFR за гетерозиготним типом (С/Т) спостерігалась у 10 пацієнток контрольної і 16 – клінічної групи. Мутація МТНFR за гомозиготним (Т/Т) типом визначалась у 8 пацієнток контрольної і 8 пацієнток клінічної групи. Це змусило розбити кожну з груп (контрольну і клінічну) за поліморфізмом гена МТНFR на три підгрупи: хворі без мутації (з генотипом С/С), з мутацією С/Т і з мутацією Т/Т.

Хіміопроменеве лікування по-різному впливало на легені хворих з різним генотипом МТНFR. Так, у пацієнтів контрольної групи без мутації (генотип С/С) пневмофіброз розвинувся у 8,7% випадків, у пацієнтів з С/Т – в 30%, а у пацієнтів з Т/Т мутаціями МТНFR – у 100% випадків, що було підтверджено даними СКТ. Через 12 місяців після закінчення хіміопроменевого лікування у цих хворих підтримувався млявий запальний процес і розвивалась дихальна недостатність різ-

Таблиця 1

Вплив кверцетину та тіотріазоліну на клінічні прояви дихальної недостатності у хворих на рак грудної залози з поліморфізмом гена МТНFR (12 міс. після хіміо-променевого лікування)

Показники зовнішнього дихання	Хворі без мутації (генотип С/С)		Мутація С/Т (гетерозиготний генотип)		Мутація Т/Т (гомозиготний генотип)		Середній показник за групою	
	Група А (контрольна n=23)	Група В (з протекторами n=7)	Група А (контрольна n=10)	Група В (з протекторами n=16)	Група А (контрольна n=8)	Група В (з протекторами n=8)	Група А (контрольна n=41)	Група В (з протекторами n=31)
Частота дихань/хв.	18,4±0,89	16,7±0,75	20,7±1,05	17,0±0,5	21,8±0,46	18,1±0,35	19,6±1,65	17,2±0,76
Кашель	4 (17,4%)	0	10 (100%)	1(6,25%)	8(100%)	3(37,5%)	24(58,5%)	4(12,9%)
Задишка	2 (8,7%)	0	10 (100%)	0	8(100%)	2(25,0%)	20(48,8%)	2(6,45%)
Сатурація O ₂ (%)	94,9±3,13	98,4±0,78	87,0±2,0	97,3±0,87	85,1±0,64	95,0±0,53	91,1±5,1	96,9±1,47
Лейкоцити (тис./мл)	7,9±0,75	7,0±1,91	15,1±0,63	6,31±1,04	14,9±0,45	8,28±1,02	11,0±3,6	6,97±1,48
ШОЕ	14,9±1,62	7,29±1,11	32,3±1,56	7,31±0,94	33,9±1,12	9,5±0,75	22,4±9,6	7,87±1,33
СКТ пневмофіброз	2 (8,7%)	0	3 (30%)	0	8 (100%)	0	13(31,7%)	0

ного ступеня вираження. Їх проявами були: загальна слабкість, лейкоцитоз, підвищення ШОЕ, кашель, задишка, погіршення показників зовнішнього дихання і сатурації кисню.

Так, середній показник частоти дихань у хворих з С/Т і Т/Т мутаціями, відповідно, становив $20,7 \pm 1,05$ та $21,8 \pm 0,46$ за хвилину, коли в групі хворих без мутації $18,4 \pm 0,89$ дих./хв. Рівень лейкоцитів у периферичній крові у хворих з С/Т і Т/Т мутаціями складав, відповідно, $15,1 \pm 0,63$ та $14,9 \pm 0,45 \times 10^9$ /л проти $7,9 \pm 0,75 \times 10^9$ /л у пацієнток з С/С генотипом. Висока ШОЕ в цих підгрупах ($32,3 \pm 1,56$ мм/год. та $33,9 \pm 1,12$ мм/год.) свідчила про затяжний запальний процес, тоді, як у пацієнток без мутації середні показники ШОЕ склали $14,9 \pm 1,62$ мм/год. Сатурація кисню у хворих без мутації складала $94,9 \pm 3,13\%$ від норми, у хворих з гетерозиготним типом мутації С/Т – $87,0 \pm 2,0\%$, а при гомозиготному типі мутації Т/Т – тільки $85,1 \pm 0,64\%$ (табл. 1).

Форсована життєва ємність легень (FVC) у групі хворих з Т/Т мутацією була вірогідно на $33,0\%$, а в групі з С/Т мутацією – на $27,2\%$ нижчою від норми, максимальна вентиляція легень (MVV) – на $50,3\%$, пікова об'ємна швидкість видиху (PEF) – на $43,7\%$. Тоді, як у хворих без мутації (генотип С/С) показники зовнішнього дихання значно менше відрізнялись від норми. Так, FVC у цій групі була нижчою від норми лише на $9,2\%$, MVV – на $15,3\%$ і PEF – на $14,4\%$ (табл.2).

У хворих з мутаціями С/Т та Т/Т суттєво знизились показники середньої об'ємної швид-

кості (FEF2575) та миттєвої об'ємної швидкості (FEF 25, 50, 75 л/с.), які були значно нижчими від показників хворих без мутації. Так, FEF2575 у хворих з мутацією С/Т була на $37,3\%$, а у хворих з Т/Т мутацією на $38,9\%$ нижчою від норми. Показники FEF25 у цих хворих, відповідно, зменшились на $39,2\%$ та $42,0\%$, FEF50 – на $42,8\%$ та $44,9\%$, FEF75 – на $41,7\%$ та $44,6\%$.

У групі хворих без мутації ці зміни були в декілька разів менш вираженими. Так, об'ємна швидкість (FEF2575) у цих хворих була нижчою від норми на $14,8\%$, миттєва FEF 25 – на $18,8\%$, FEF 50 – на $21,3\%$ а FEF 75 – на $23,1\%$.

Ефективне лікування пнеумофіброзу на сьогодні складає серйозну проблему. Суб'єктивне покращання при лікувальних заходах настає досить швидко, проте покращання рентгенографічної картини відбувається значно повільніше. Тому важливим завданням є попередження розвитку такого грізного ускладнення шляхом застосування патогномонічної протекторної терапії.

Застосувавши протягом всього періоду хіміопротекторного лікування у хворих на рак грудної залози тіотриазолін і кверцетин, ми отримали вражаючий протекторний ефект, особливо, в осіб з Т/Т мутаціями гена, в яких відмічались найбільш виражені побічні ефекти (табл. 3).

Під впливом протекторів FVC у групах хворих з С/Т і Т/Т мутацією вірогідно зросла на $23,9\%$ та на $26,1\%$, відповідно, MVV – на $47,8\%$ та $41,5\%$, PEF – на $43,5\%$ та $43,7\%$ і вірогідно не відрізнялись від норми.

Таблиця 2

Залежність показників зовнішнього дихання у хворих на рак грудної залози від поліморфізму гена MTHFR (12 міс. після хіміопротекторного лікування)

Показники зовнішнього дихання	Хворі без мутації (генотип С/С)		Мутація С/Т (гетерозиготний генотип)		Мутація Т/Т (гомозиготний генотип)	
	Фактичний показник	% від норми	Фактичний показник	% від норми	Фактичний показник	% від норми
FVC /л.	$2,72 \pm 0,28$	$90,8 \pm 6,5$	$2,30 \pm 0,19$	$72,8 \pm 8,03$	$2,21 \pm 0,1$	$67,0 \pm 1,3$
MVV л/м.	$83,35 \pm 4,94$	$87,0 \pm 2,85$	$48,15 \pm 9,22$	$49,7 \pm 7,91$	$50,2 \pm 2,56$	$49,4 \pm 1,76$
PEF л/с.	$5,05 \pm 0,48$	$85,6 \pm 4,25$	$3,47 \pm 0,25$	$57,2 \pm 1,54$	$3,08 \pm 0,35$	$51,9 \pm 0,83$
FEF2575 л/с.	$2,53 \pm 0,35$	$86,2 \pm 3,35$	$1,91 \pm 0,16$	$62,7 \pm 1,25$	$1,95 \pm 0,07$	$61,1 \pm 0,83$
FEF25 л/с.	$4,30 \pm 0,57$	$81,2 \pm 3,84$	$3,38 \pm 0,22$	$60,8 \pm 2,97$	$3,23 \pm 0,11$	$58,0 \pm 1,07$
FEF50 л/с.	$2,79 \pm 0,19$	$78,7 \pm 2,54$	$2,05 \pm 0,17$	$57,2 \pm 2,85$	$2,6 \pm 0,64$	$55,1 \pm 0,83$
FEF75 л/с.	$1,10 \pm 0,12$	$76,9 \pm 2,50$	$0,81 \pm 0,07$	$58,3 \pm 3,83$	$0,79 \pm 0,03$	$55,4 \pm 1,06$

Вплив кверцетину та тіотріазоліну на показники зовнішнього дихання у хворих на рак грудної залози з поліморфізмом гена MTHFR (12 міс. після хіміопроменевого лікування)

Показники зовнішнього дихання	Хворі без мутації (генотип С/С)		Мутація С/Т (гетерозиготний генотип)		Мутація Т/Т (гомозиготний генотип)	
	Фактичний показник	% від норми	Фактичний показник	% від норми	Фактичний показник	% від норми
FVC /л.	2,94±0,19	97,1±1,07	2,93±0,22	96,7±1,01	2,77±0,15	93,1±1,72
MVV л/м.	96,04±5,01	97,0±2,64	94,35±10,46	97,5±4,22	84,65±6,17	90,9±2,47
PEF л/с.	5,86±0,37	99,6±2,14	6,04±0,42	100,7±4,64	5,6±0,31	95,6±2,97
FEF2575 л/с.	3,04±0,38	100,4±6,47	3,04±0,31	99,6±4,91	2,79±0,36	99,0±2,44
FEF25 л/с.	5,35±0,51	98,0±1,82	5,33±0,41	99,5±5,21	5,12±0,33	98,0±3,85
FEF50 л/с.	3,47±0,21	96,43±4,54	3,37±0,34	96,31±4,34	3,44±0,23	97,6±4,95
FEF75 л/с.	1,39±0,17	96,4±2,76	1,35±0,24	96,8±3,37	1,45±0,18	98,6±3,92

FEF2575 у хворих з мутацією С/Т під впливом протекторів зросла на 36,9%, а у хворих з Т/Т мутацією – на 37,9% і практично не відрізнялась від норми. Показники FEF25 у цих хворих, відповідно, збільшились на 38,7% та 40,0%, FEF50 – на 39,1% та 42,5%, FEF75 – на 38,5% та 43,2%. У групі хворих без мутації зміни під дією протекторів були менш вираженими, хоча також призвели до повної нормалізації показників зовнішнього дихання.

У жодної з пацієнок, які отримували хіміо-променеву терапію на тлі протекторів, фіброз легень не розвивався. Значно зменшились явища запалення і покращились показники зовнішнього дихання.

Так, рівень лейкоцитів під впливом протекторів у групах хворих з С/Т і Т/Т мутацією зменшився, відповідно, з 15,1±0,63 до 6,31±1,04 та з 14,9±0,45 до 8,28±1,02 тис./мл., в усіх групах нормалізувалась ШОЕ і не перевищувала 9,5±0,75 мм/год., задишка спостерігалась лише у 2 хворих з Т/Т мутацією, а кашель – в однієї пацієнтки з С/Т і у трьох з Т/Т мутаціями MTHFR, сатурація кисню в усіх групах вірогідно не відрізнялась від норми, крім групи хворих з Т/Т мутацією, де вона була лише на 5% нижчою.

ВИСНОВКИ:

Застосування у хворих на рак грудної залози хіміопроменевого лікування викликає розвиток пневмофіброзу у 36,4% хворих, що супроводжується значним зниженням показників зовнішнього дихання (форсованої ємності легень на 17,2%, максимальної вентиляції – на 50,3%, пікової об'ємної швидкості видиху – на 43,7%, сатурації кисню – на 13%.

Резистентність легеневої тканини хворих на рак грудної залози до хіміо-променевого впливу генетично детермінована і залежить від мутації гена MTHFR. Мутація Т677Т у 100% випадків призводить до розвитку фіброзу легень, мутація С/Т – у 30%. У хворих без мутації з гомозиготним С/С генотипом пневмофіброз розвивається лише у 8,6% випадків.

Застосування тіотріазоліну та кверцетину нівелює негативний вплив мутації гена MTHFR на розвиток постхіміопроменевих легневих пошкоджень, попереджує розвиток пневмофіброзу, зменшує запальні явища і нормалізує показники зовнішнього дихання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Грушина Т.И. Реабилітація в онкології: фізіотерапія / Т.И. Грушина. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2006. – 240с.

2. Кампова-Полевая Е.Б. Клиническая маммология. Современное состояние проблемы / Е.Б. Кампова-Полевая, С.С. Чистякова. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2006. – 512с.

3. Хурані І.Ф. Легеневі ускладнення комбінованого лікування онкологічних хворих / І.Ф. Хурані // Новоутворення. – 2010. – №6(2). – С.20-23.

4. Хурані І.Ф. Вплив мутації метилентетрагідрофолатредуктази на розвиток хіміопроменевих легеневих ушкоджень у хворих на рак грудної залози / І.Ф. Хурані // Науковий вісник Ужгородського університету. – 2011. – випуск 3 (42). – С. 62-65.

5. American society of clinical oncology clinical evidence review on the ongoing care of adult cancer survivors: cardiac and pulmonary late effects / R. Joseph Carver, L. Charles Shapiro, N. Andrea et al. // Journal of clinical oncology. – 2007. – V.25, №25. – P. 3991-4009.

6. Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and sex-specific survival in patients with metastatic colon cancer / Wu Zhang, Oliver A. Press, Christopher A. Haiman et al. // Journal of clinical oncology. – 2007. – V.25, №24. – P. 3726-3731.

7. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism (677 C>T) predicts long time to progression in metastatic colon cancer treated with 5-fluorouracil and folinic acid / O. Castillo-Fernández, M. Santibáñez, A. Bauza et al. // Arch Med Res. – 2010. – V.41, №6. – P. 430-435.

Хурані І.Ф.

ВЛИЯНИЕ КВЕРЦЕТИНА И ТИОТРИАЗОЛИНА НА ПОСТХИМИО-ЛУЧЕВОЙ ПНЕВМОФИБРОЗ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ГРУДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С МУТАЦИЕЙ ГЕНА ТИЛЕНТЕТРАГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ

Реферат. Изучено влияние мутации гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) на развитие пневмофиброза у больных раком грудной железы, индуцированного химиолучевым воздействием. Рассмотрены возможности профилактики фиброза легких путем примене-

ния кверцетина и тиотриазолина. Установлено, что у больных с мутациями гена MTHFR по гомозиготному (Т677Т) типу, получавших химиолучевое лечение, в течение первого года развивается фиброз легких у 100% случаев, у больных с мутациями по гетерозиготному типу (С677Т) – в 30%, а у больных без мутации, с генотипом (С677С) – лишь в 9%.

Применение в качестве протекторов кверцетина и тиотриазолина значительно ослабляет негативное влияние мутаций гена MTHFR на легочную ткань, позволяет предупредить развитие пневмофиброза, значительно улучшает показатели внешнего дыхания и сатурации кислорода, уменьшает воспалительные явления в легких.

Ключевые слова: рак грудной железы, постхимиолучевой пневмофиброз, метилентетрагидрофолатредуктаза, кверцетин, тиотриазолин.

Hourani I.F.

QUERCITIN AND THIOTRIAZOLINE EFFECT ON POST CHEMIO-RADIATION PULMONARY FIBROSIS IN PATIENTS WITH BREAST CANCER WITH GENE METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE MUTATION

Abstract. Research is dedicated to study of the genetic factors role in the development of complications of chemoradio therapy on the side of the respiratory system in breast cancer patients.

With the help of SKT it was found that pulmonary fibrosis developed in 36.4% patients, receiving chemoradio therapy during the first year. In all patients the indices of external respiration and oxygen saturation reduce significantly, the chronic inflammatory process is maintained. S677T mutation (heterozygous genotype) of the MTHFR gene reduces the resistance of the patients lung tissue with chemoradio influence and in 100% of patients it leads to pulmonary fibrosis. In homozygous C/C genotype patients pulmonary fibrosis develops only in 8.6% cases.

Key words: breast cancer, chemoradiotherapy, methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene mutation.