

Hematologické a imunologické parametry u onkologických pacientů užívajících preparát Ovosan

Horák V.¹, Pokorná E.²

¹Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i., 277 21 Liběchov

²Areko, spol. s r.o., 148 00 Praha 4

Úvod

Chemoterapie a radioterapie jsou společně s chirurgickým odstraněním nádorů standardními způsoby léčby pacientů postižených různými typy solidních zhoubných nádorů. Účinek cytostatických látek používaných při chemoterapii nevykazuje selektivní efekt pouze na nádorové buňky, ale působí rovněž na normální proliferující buňky. Při systémové aplikaci cytostatik, která je nejběžnějším způsobem chemoterapie, jsou tak postiženy epiteliální buňky zažívacího traktu, buňky kostní dřene a vlasových folikulů. To vede k výrazným nežádoucím vedlejším účinkům (myelosuprese, mukositida, alopecie). Myelosuprese (imunosuprese) potlačuje normální funkci kostní dřene, což se projevuje změnou krevního obrazu – poklesem počtu červených krvinek (anemie), bílých krvinek (neutrofilie – neutropenie) nebo krevních destiček (trombocytopenie). V souvislosti s tím dochází ke zvýšené únavě pacientů a ke snížení odolnosti vůči různým infekcím. Podrobnější studie periferní krve prokázala, že zatímco pokles počtu neutrofilů, monocytů a trombocytů po jednotlivých cyklech chemoterapie se v intervalech mezi nimi vrací na více než 50% původní hodnoty, subpopulace lymfocytů klesají po prvním cyklu na velmi nízké hodnoty, na kterých zůstávají během celé léčby (Mackall et al. – Blood 84: 2221, 1994).

Ovosan je potravinový doplněk vyráběný firmou Areko, s.r.o. Praha (www.areko-praha.cz). Jedná se o směs biologicky aktivních fosfolipidů (BAF) na přírodní bázi, které vykazují selektivní protinádorový efekt. Ten je přičítán jednak jejich inhibičnímu působení na enzymatickou

aktivitu proteinkinasy C a jednak kumulaci fosfolipidů v membránách nádorových buněk (pro nepřítomnost nebo nízkou aktivitu enzymu alkyl-glycerol-monooxygenasy, který je štěpí), což způsobuje jejich destrukci. Ovosan je doporučovaný pro celkové zlepšení zdravotního stavu, pro urychlení regenerace organismu, pro podporu funkce imunitního systému a pro potlačení nežádoucích vedlejších účinků chemoterapie nebo radioterapie. Cílem této studie bylo posoudit, do jaké míry se může u onkologických pacientů léčených standardními postupy příznivě projevit vliv perorálně užívaného preparátu Ovosan na základní hematologické a imunologické parametry.

Materiál a metodiky

Od dubna 2009 byla u skupiny pacientů postižených nádorovým onemocněním zahájena tato studie, která bude ukončena v roce 2013. Postupně do ní bylo zařazeno 65 pacientů s různým typem nádorového onemocnění (především karcinom pankreatu-24x, karcinom mléčné žlázy-13x, kolorektální karcinom-7x, karcinom prostaty-4x, karcinom ovaria-4x; nádory mozku-7x; ostatní nádory byly zastoupeny jen 1-2 případy). Jedná se o ženy a muže ve věku zhruba 30 - 80 let, v různém stádiu nádorového onemocnění, s různým způsobem standardní léčby a s různou denní dávkou Ovosanu aplikovanou po různě dlouhou dobu.

Na základě informovaného souhlasu byly u pacientů prováděny opakované odběry periferní venózní krve. Krev objemu 1-2 ml byla odebírána do PE-zkumavek potažených K3EDTA (Vacuette, Greiner-Bio-One, Thajsko). První odběr byl proveden před zahájením podávání Ovosanu. Následně pak byly odběry uskutečněné zhruba jedenkrát za 2-3 měsíce v závislosti na aktuálním zdravotním stavu pacienta a na probíhající standardní léčbě. Hematologickým analyzátozem Mythic 18 (Orphée S.A., Švýcarsko) byly stanovovány základní hematologické parametry - počet leukocytů (WBC, 109/l), počet lymfocytů (LYM, 109/l) a procentuální zastoupení, počet monocytů (MON, 109/l) a procentuální zastoupení, počet granulocytů (GAR, 109/l) a procentuální zastoupení, počet erytrocytů (RBC, 10¹²/l), koncentrace hemoglobinu (HGB, g/l), hematokrit (HCT, %) a počet trombocytů (PLT, 109/l).

Paralelně bylo sledováno ve stejných vzorcích krve pomocí průtokové cytometrie na základě exprese dvou CD-znaků procentuální zastoupení různých subpopulací lymfocytů. Směsi dvou naředěných, odlišně fluorescenčně značených myších monoklonálních protilátek (Exbio, Praha) (anti-CD3/FITC+anti-CD4/PE; anti-CD3/FITC+anti-

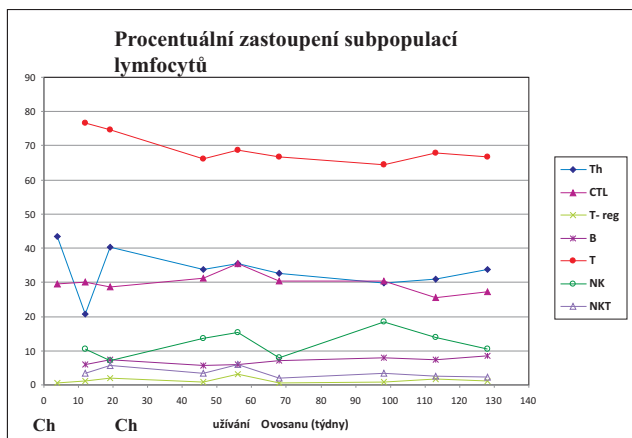
CD8/PE; anti-CD3/FITC+anti-CD56/PE; anti-CD3/FITC+anti-CD19/PE) byly inkubované s 10 μ l nesrážlivé krve (30 min. v lednici). Pak byla provedena lýza erytrocytů přidáním 200 μ l naředěného roztoku (1:19 s destilovanou vodou) Easy Lyse (Dako, Dánsko; 10 min. při pokojové teplotě ve tmě) a následně bylo přidáno 10 μ l roztoku propidium jodidu (PI; 1 μ g/ml). Obarvená buněčná suspenze byla okamžitě analyzována přístrojem FACSCalibur (Becton Dickinson, CA, USA). Získané údaje byly vyhodnocené programem Flow Jo (Tree Star, OR, USA). Za pomocné T lymfocyty (Th) byly považovány buňky s fenotypem CD3+ CD4+, za cytotoxické lymfocyty (CTL) buňky CD3+ CD8+, za NK (natural killer) buňky CD3- CD56+, za NKT buňky CD3+ CD56+, za B lymfocyty buňky CD3- CD19+a za T lymfocyty buňky CD3+ CD19-. Pro sledování T regulačních buněk (Treg) byla použita kombinace protilátek anti-CD4/FITC+anti-Foxp3/PE (eBioscience, CA, USA) a roztoky pro fixaci a permeabilizaci buněk (eBioscience) podle doporučení výrobce.

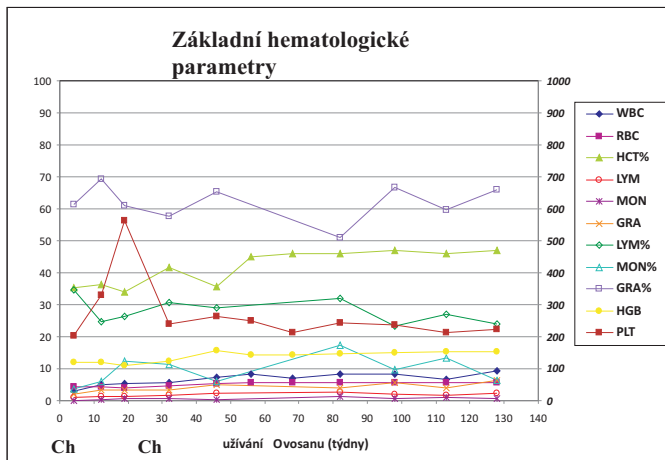
Výsledky a diskuse

Skupina pacientů zařazená do této studie byla výrazně heterogenní především z hlediska průběhu nádorového onemocnění a způsobu jeho léčby. To patrně mohlo ovlivnit hodnoty sledovaných parametrů, které tak vykazovaly značnou individuální variabilitu a to i v případě, že se jednalo o pacienty s toutéž diagnózou. Proto jsme neprovedli sumarizaci a statistické zpracování získaných dat, ale posuzovali jsme je samostatně v rámci jednotlivých pacientů. Procentuální zastoupení subpopulací lymfocytů a hodnoty hematologických parametrů se pohybovaly v rozmezí normálních hodnot (někdy spíše při jejich dolní hranici). Ve sledovaných parametrech jsme u pacientů zaznamenali obvykle pouze menší a krátkodobé výkyvy, které odrážely nezbytné chirurgické zákroky a léčbu nádorového onemocnění chemoterapií nebo radioterapií. Nepozorovali jsme však žádné výrazné dlouhodobé poklesy v zastoupení Th, CTL a B lymfocytů, které byly popsány u pacientů léčených chemoterapií (Mackall et al. – Blood 84: 2221, 1994). U dlouhodoběji sledovaných pacientů jsme naopak zjistili značnou stabilizaci hodnot hematologických parametrů i podílu subpopulací lymfocytů, přestože byla opakovaně aplikována chemoterapie (obr. 1). Tato skutečnost by mohla být přičítána podpůrnému působení Ovosanu na krvetvorbu a buňky imunitního systému. Do studie však nebyla

zařazena kontrolní skupina pacientů léčených chemoterapií, ale bez aplikace Ovosanu, která by tento předpoklad mohla jasně potvrdit. Není rovněž jasné, zda by se mohla deklarovaná podpora funkce imunitního systému navozená podáváním Ovosanu projevit např. zvýšením hodnot sledovaných parametrů, protože žádná taková studie nebyla dosud provedena.

Dávkování Ovosanu bylo u pacientů zvoleno tak, aby se dosáhlo co nejrychleji jeho vysoké koncentrace v organismu a tato aby byla dlouhodobě zachována. Obvykle se jednalo o 3 x 5 kapslí Ovosanu denně. To při hmotnosti kapsle 500 mg a 30% obsahu BAF představuje denní perorální dávku BAF 2 250 mg/pacienta. Při pokusech na myších s inokulovanými buňkami karcinomu rekta byl pozorován supresivní účinek na růst nádorů při dávce 4,5 mg BAF (PNAE) s.c./myš/den (Poučková et al. – Čas. Lék. Českých 126: 1569, 1987). Když bychom chtěli uvažovat o dosažení podobného efektu u pacientů, pak bychom při prostém přepočtu dávkování přes hmotnosti obou druhů (myš cca 30g, člověk cca 60 kg) (pokud bychom pominuli např. odlišné rychlosti metabolismu) došli k hodnotě 9 000 mg BAF/den, což představuje 60 kapslí Ovosanu. Navíc sledování ukládání PNAE ve tkáních myši nesoucích sarkom prokázalo, že do samotného nádoru se dostává jen malá část, zatímco většina byla lokalizována v játrech a ve slezině (Kára et al. – J. Cancer Res. Clin. Oncol. 120: 662, 1994). Otázkou tak zůstává, zda empiricky zvolené dávkování Ovosanu je optimální pro dosažení očekávaného efektu.





Obr. 1: Hodnoty sledovaných parametrů u pacienta s karcinomem pankreatu, u kterého je zdravotní stav dlouhodobě stabilizovaný. Hodnoty na pravé ose y u grafu hematologických parametrů se týkají HGB a PLT. Ch = počátek chemoterapie.

Poděkování

Tato studie vznikla za finanční podpory firmy Areko, s.r.o. Praha a Ústavu živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i., Liběchov (RVO 67985904). Autoři děkují paní Jitce Klučinové a paní Jaroslavě Šestákové za výbornou technickou asistenci při provádění analýz a grafickém zpracování výsledků.