

В.Л. Кобись, к.м.н., президент благодійного фонду «Педіатри проти раку», Київський міський клінічний онкологічний центр

Екзогенний лактоферин у корекції залізодефіцитних станів у хворих онкологічного профілю

Останніми роками анемія привертає до себе пильну увагу вчених, оскільки є частим ускладненням новоутворень і протипухлинної цитотоксичної терапії. На тлі хіміотерапії частота анемії середньотяжкого (гемоглобін – Нb – 80-100 г/л) і тяжкого (Нb 65-79 г/л) ступеня досягає 75%, що негативно впливає на якість життя пацієнтів. Крім того, анемія призводить до тканинної гіпоксії, знижує чутливість пухлини до хіміо- та променевої терапії і є незалежним прогностичним фактором, що впливає на виживаність хворих онкологічного профілю.

Етіопатогенетичні механізми розвитку анемії при злоякісних пухлинах багатоглибкі і складні. Активізація імунної системи і гіперекспресія прозапальних цитокінів (інтерлейкіни (ІЛ)-1 і 6, фактор некрозу пухлини (ФНП), інтерферон γ та ін.) порушують продукцію ендogenous еритропоєтину, еритроцитів і метаболізм заліза [1, 3].

Анемія у хворих онкологічного профілю може розвиватися внаслідок різних причин, найбільш частими є:

- нестача заліза і вітамінів;
- наявність пухлини (інфільтрація кісткового мозку, кровотеча, гіперспленізм, анемія хронічних захворювань);
- протипухлинне лікування (променева терапія, хіміотерапія і т. д.);
- супутні захворювання (гемоглобінопатії, патологія нирок та ін.) [4, 16].

Анемія є результатом складних патофізіологічних і патохімічних процесів, центральна роль в яких відводиться універсальному гуморальному регулятору метаболізму заліза – пептиду гепсидину, який синтезується в печінці. Гепсидин був відкритий і описаний А. Krause і співавт. як LEAP (liver expressed antimicrobial peptide). Установлено, що гіперпродукція ІЛ-6 сприяє підвищеному синтезу гепсидину. Циркуючи в плазмі, гепсидин взаємодіє з транспортним білком феропортином, пригнічує всмоктування заліза в кишечнику, вивільнення його з макрофагів і еритроцитів, що призводить до дефіциту заліза в кістковому мозку і розвитку анемії. Навіть коли кількість заліза в організмі є достатньою або підвищеною, може виникати так званий функціональний дефіцит заліза [9].

У нормі гепсидин, насамперед, має яскраво виражені антибактеріальні властивості і є білком гострої фази запалення.

Однак завдяки сучасним генно-інженерним технологіям вдалося з'ясувати, що роль гепсидину в організмі значно багатоглибкіша. Так, наприклад, було показано, що гепсидин є негативним регулятором захоплення заліза в тонкому кишечнику і блокує залізо в макрофагах [2, 7]. Ці дані узгоджуються з результатами інших досліджень. Е. Nemeth і співавт. оцінювали рівень гепсидину і деяких цитокінів у добровольців із запаленням, викликаним застосуванням ліпополісахариду. Було показано, що незабаром після введення агента запалення відбувається зростання концентрації прозапального ІЛ-6, а також різко підвищуються рівні інтерферону, ФНП та ІЛ-1 β . Також відзначається підвищення експресії мРНК гепсидину в кілька тисяч разів і зниження рівня заліза в сироватці.

У результаті цих експериментів Е. Nemeth і співавт. припустили, що ІЛ-1 стимулює синтез лактоферину, який зв'язує залізо з більшою афінністю, ніж трансферин; залізо, зв'язане з лактоферином, захоплюється макрофагами і зберігається у формі феритину, тим самим ускладнюючи з'єднання заліза з еритроїдними клітинами. Потім підвищується рівень ІЛ-6, який активує експресію гепсидину, що призводить до зменшення абсорбції заліза у кишечнику і збільшення його секвестрації в макрофагах. Аналогічна ситуація спостерігається за наявності пухлин: у пацієнта розвивається анемія, підвищуються рівні гепсидину, феритину та ІЛ-6. Це ще раз підтверджує припущення, що високий рівень гепсидину пригнічує еритропоез шляхом виснаження запасів заліза. У віддаленому періоді це призводить до абсолютного залізодефіциту в організмі внаслідок порушення його засвоєності з їжі або

застосовуваних усередину препаратів [7, 13]. Якщо гепсидиновий блок існує недовго, то це може призвести до функціонального дефіциту заліза – стану, при якому не можливо ефективно мобілізувати цей елемент із запасів у ретикулоендотеліальній системі. Щоденно у здорових людей з макрофагів вивільнюється 25 мг заліза, а у пацієнтів із запальними процесами вказаний показник становить приблизно 15 мг/добу. За даними G. Fillet і співавт., за наявності запального процесу, пухлинної патології вивільнення заліза знижується в середньому на 44% порівняно з нормою. Таким чином, навіть у пацієнтів із достатніми запасами заліза можуть виникнути ситуації зі зменшенням його доступної кількості, особливо у разі швидкого збільшення кількості еритроцитів крові при застосуванні стимуляторів еритропоезу [5, 6].

Феритин сироватки крові є найбільш часто використовуваним діагностичним маркером, який дозволяє оцінити стан запасів заліза, тоді як рівень насичення трансферину залізом, процентний вміст гіпохромних еритроцитів і вміст Нb в ретикулоцитах краще відображають ступінь біодоступності заліза.

Останніми роками спеціалісти різних напрямів медицини все більше уваги приділяють екзогенним пептидам, які можуть сприяти нормалізації порушених біохімічних процесів, рівня лактоферину. Лактоферин є багатобілковою глікопротеїном родини трансферину з підвищеною здатністю до зв'язування з залізом. Спорідненість лактоферину до заліза в 300 разів вища, ніж в інших трансферинів. Він міститься в грудному молоці, а також в інших рідинах організму, зокрема в слині. У недавніх дослідженнях визначена роль лактоферину в гомеостазі

заліза. Він здатний індукувати вивільнення заліза з тканин у кровотік за допомогою механізму мобілізації цього елемента. Клінічні дані показали, що лактоферин, спожитий усередину, може сприяти нормалізації рівнів загального заліза в плазмі крові, Нb, феритину, а також кількості еритроцитів. Лактоферин бере участь у відновленні імунного статусу, посилює протидію захисних сил організму інфекціям, викликаних мікробами, грибами і вірусами [12, 14, 15]. За даними клінічних досліджень (Raesano та співавт., 2010), деякі препарати заліза, зокрема заліза сульфат, подразнюючи та ушкоджуючи слизові оболонки шлунково-кишкового тракту, здатні індукувати зростання концентрації ІЛ-6. Підвищення експресії ІЛ-6, як відомо, здатні індукувати пухлини, а також хіміотерапевтичні агенти, які взаємодіють з ними. Тому контроль рівня ІЛ-6 дуже важливий у хворих онкологічного профілю, адже цей прозапальний цитокін стимулює активність гепсидину, який перешкоджає вивільненню заліза з еритроцитів у кровоносне русло. Виникає своєрідне порочне коло залізодефіциту (рис. 1). Як виявилось, розірвати його здатний екзогенний лактоферин. Лактоферин знижує концентрацію ІЛ-6, пригнічує гепсидин і сприяє вивільненню заліза із клітин-депо (рис. 2).

Матеріал і методи

У дослідження було включено 108 дітей віком 12-17 років з новоутвореннями опорно-рухового апарату, у яких спостерігалася залізодефіцитна анемія середнього ступеня тяжкості. Випробування проведено на базі відділення дитячої онкології Київського міського клінічного онкологічного центру за період 2014-2015 рр. Як було згадано вище, анемія у пацієнта онкологічного профілю може виникнути з різних причин, зокрема внаслідок токсичних ефектів хіміотерапії, яка застосовується для лікування таких пухлин, як остеосаркома та саркома Юїнга [8, 10, 11].

Метою нашої роботи було порівняння ефективності застосування екзогенного лактоферину та гідроксиду заліза в лікуванні анемічного синдрому середнього ступеня тяжкості у хворих онкологічного профілю. При плануванні дослідження враховувалися вимоги до вивчення клінічного питання (PICO): P (population) – пацієнти з залізодефіцитною анемією середнього ступеня тяжкості; I (intervention) – лактоферин; C (comparator) – гідроксид заліза та контрольна група; O (Outcome) – безпека, переносимість та ефективність.

Було сформовано 3 групи: дослідження (n=54), порівняння (n=54) та контролю (n=54). Хворим групи дослідження був призначений лактоферин (Латоа, виробник Gielleri S.A. на замовлення ПАТ «Фітофарм») 100 мг 2 р/добу. Хворі групи порівняння застосовували полімальтозний комплекс гідроксиду заліза 100 мг 2 р/добу. Пацієнти контрольної групи не мали ознак анемічного синдрому та не отримували відповідного лікування. Курс лікування анемії та спостереження групи контролю становив 60 днів. У контрольних точках через 15, 30, 45 та 60 днів після початку лікування моніторингу підлягали такі показники: феритин сироватки,

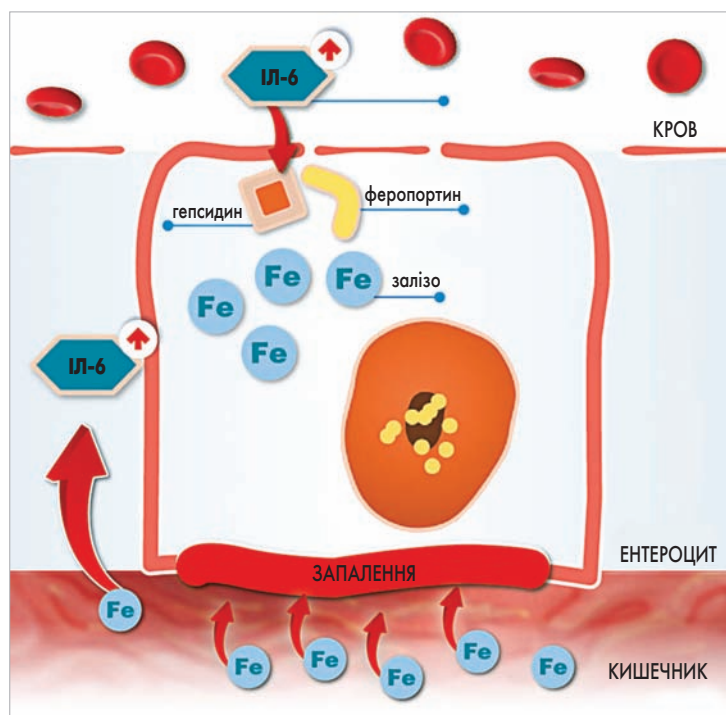


Рис. 1. Порочне коло залізодефіциту
Унаслідок ушкодження слизової оболонки кишечника підвищується концентрація ІЛ-6. Він індукує активність гепсидину, який блокує вихід депонованого заліза з клітини у кров.

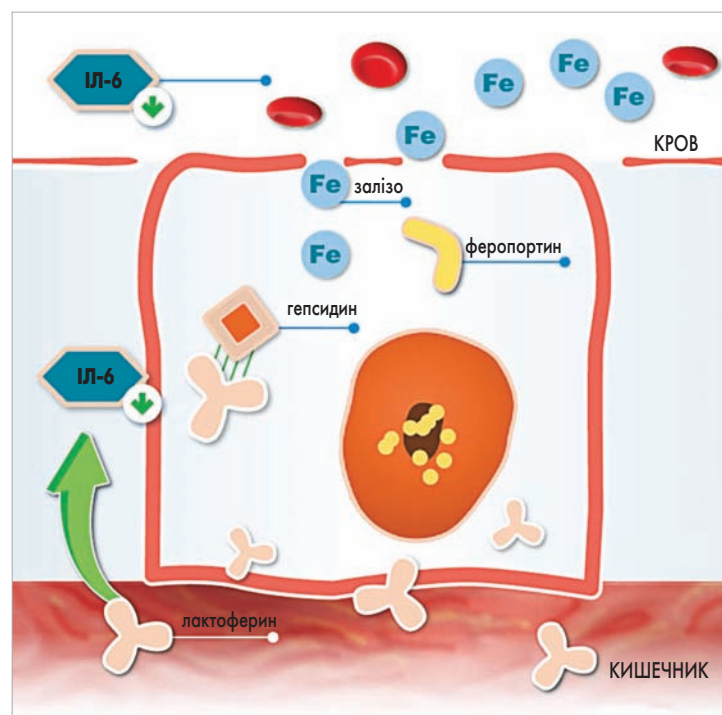


Рис. 2. Механізм дії екзогенного лактоферину
Лактоферин знижує концентрацію ІЛ-6 та пригнічує активність гепсидину, активується транспортний білок феропортин, і депоноване залізо виходить у кровоносне русло.

Таблиця. Гематологічні показники у пацієнтів (M±SD)

Показник	Періоди (день)	Групи			P ₍₁₋₂₎	P ₍₁₋₃₎
		Дослідження (1)	Порівняння (2)	Контроль (3)		
Феритин сироватки, мкг/л	1-й	7,3±0,9	7,5±1,1	19,5±1,9	0,303	0,001
	15-й	10,3±1,3*	9,3±1,6*	29,5±2,3	0,001	0,001
	30-й	19,2±3,0*	10,3±1,7*	22,6±2,5	0,001	0,001
	45-й	27,2±2,9*	10,2±1,7*	19,9±2,7	0,001	0,001
	60-й	34,1±4,8*	12,0±2,3*	20,3±2,7	0,001	0,001
Коефіцієнт насичення трансферину залізом (%)	1-й	16,4±2,4	16,4±2,5	26,4±3,6	0,966	0,001
	15-й	17,1±2,1	17,6±3,5	33,1±2,4	0,075	0,001
	30-й	29,6±5,9*	19,6±3,8*	36,6±3,6	0,001	0,001
	45-й	34,9±3,7*	19,9±3,7*	24,9±3,2	0,001	0,001
	60-й	39,9±7,4*	20,9±3,0*	26,9±2,1	0,001	0,001
Частка гіпохромних еритроцитів (%)	1-й	4,6±0,6	4,5±0,8	3,4±0,3	0,464	0,001
	15-й	3,4±0,5*	3,4±0,6*	2,2±0,2	0,980	0,001
	30-й	3,4±0,3*	3,8±0,5*	2,7±0,2	0,001	0,001
	45-й	3,6±0,4*	4,1±0,8*	3,3±0,3	0,001	0,001
	60-й	2,7±0,3*	3,1±0,5*	2,3±0,2	0,001	0,001
Вміст Нб в ретикулоцитах, пг/клітину	1-й	26,2±4,1	27,2±3,8	34,2±2,4	0,191	0,001
	15-й	29,0±3,0*	27,0±5,5	33,0±3,0	0,021	0,001
	30-й	29,0±4,1*	28,0±5,4	33,0±3,1	0,281	0,001
	45-й	31,2±3,6*	28,2±4,8	34,2±3,7	0,001	0,001
	60-й	32,2±3,7*	29,2±5,5*	33,2±3,2	0,001	0,136
Нб, г/л	1-й	86,0±11,0	87,0±14,7	114,0±10,9	0,690	0,001
	15-й	99,3±15,8*	90,3±11,9	116,3±11,0	0,001	0,001
	30-й	109,3±11,4*	92,3±16,2	112,3±15,0	0,001	0,401
	45-й	114,6±11,1*	94,6±18,0*	114,5±11,8	0,001	0,988
	60-й	121,4±13,7*	106,4±13,9*	116,4±11,6	0,001	0,167
Кількість еритроцитів, абс. ×10 ¹² /л	1-й	3,1±0,5	3,0±0,4	4,2±0,4	0,145	0,001
	15-й	3,4±0,8	3,2±0,8	4,5±0,6	0,031	0,001
	30-й	4,1±0,6*	3,9±0,7*	5,0±0,6	0,114	0,001
	45-й	3,8±0,4*	3,6±0,7*	4,3±0,6	0,071	0,001
	60-й	4,2±0,6*	3,6±0,5*	4,3±0,4	0,001	0,310
ІЛ-6, пкг/мл	1-й	44,3±4,2	37,3±7,4	5,3±0,7	0,001	0,001
	15-й	30,1±4,9*	41,0±4,5*	10,0±0,7	0,001	0,001
	30-й	14,8±3,0*	43,8±8,8*	4,8±0,6	0,001	0,001
	45-й	12,0±1,1*	44,0±5,4*	7,0±0,9	0,001	0,001
	60-й	11,3±1,6*	44,3±8,0*	6,3±0,9	0,001	0,001

M±SD – середнє арифметичне та стандартне (середнє квадратичне) відхилення; P₍₁₋₂₎ – різниця між групами дослідження та порівняння; P₍₁₋₃₎ – різниця між групами дослідження та контрольною групою за критерієм Манна-Уїтні; * різниця статистично достовірна при порівнянні відповідного значення відносно вихідного рівня в 1-й день (p<0,05, оцінка за критерієм Вількосона).

коефіцієнт насичення трансферину залізом, процент гіпохромних еритроцитів, вміст Нб в ретикулоцитах, Нб, кількість еритроцитів та рівень експресії ІЛ-6.

Наявність анемії середнього ступеня тяжкості була основним критерієм включення хворих дітей у дослідження. Лікування анемічного синдрому проводилося на тлі базової терапії онкологічного захворювання.

Для статистичного аналізу використано методи варіаційної статистики з розрахунком середніх значень показників за групами (середня арифметична) та оцінкою їх варіабельності (стандартне відхилення). Проводилась оцінка характеру розподілу первинних даних за критерієм Шапіро-Уїлка. Зважаючи на виявлену невідповідність окремих показників параметрам нормального розподілу та враховуючи певну клінічну неоднорідність груп за параметрами основного онкологічного захворювання, для порівняльного аналізу використано непараметричні критерії: критерій Вількосона для оцінки змін у динаміці та критерій Манна-Уїтні

для порівняння результатів між групами з оцінкою статистичної значущості різниці між групами та в динаміці лікування (р).

Результати та обговорення

На початок дослідження (1-й день) не виявлено статистично значущої різниці (p>0,05) між групами дослідження та порівняння за всіма показниками. У процесі корекції залізодефіцитного стану в групі дослідження та контрольній групі констатовано суттєву позитивну динаміку гематологічних показників. Зокрема, у групі дослідження вже через 2 тиж після початку застосування екзогенного лактоферину зафіксовано статистично значуще підвищення показників феритину сироватки (з 7,3±0,9 до 10,3±1,3 мкг/л; p<0,05), тенденцію до збільшення коефіцієнту насичення трансферину залізом (з 16,4±2,4 до 17,1±2,1%; p>0,05), суттєве зниження відсотка гіпохромних еритроцитів (з 4,6±0,6 до 3,4±0,5%; p<0,05), збільшення вмісту Нб в ретикулоцитах (з 26,2±4,1 до 29,0±3,0 пг/клітину; p<0,05),

підвищення показників Нб (з 86,0±11,0 до 99,3±15,8 г/л; p<0,05), кількості еритроцитів (з 3,1±0,5 до 3,4±0,8×10¹²/л; p>0,05) та суттєве зменшення експресії ІЛ-6 (з 44,3±4,2 до 30,1±4,9 пкг/мл; p<0,05); відповідні дані наведено у таблиці.

У групі порівняння на 15-й день терапії анемічного синдрому також статистично значуще збільшився рівень феритину сироватки (з 7,5±1,1 до 9,3±1,6 мкг/л; p<0,05) та зменшився відсоток гіпохромних еритроцитів (з 4,5±0,8 до 3,4±0,6%; p<0,05). Статистично значуща позитивна динаміка щодо інших показників у групі порівняння за вказаний період не зафіксована (p>0,05). Водночас на відміну від групи дослідження суттєво зріс рівень ІЛ-6 (з 37,3±7,4 до 41,0±4,5 пкг/мл), що, за припущенням дослідників, свідчить про розвиток запального процесу внаслідок подразнення слизової оболонки кишечника на тлі застосування гідроксиду заліза. У контрольній групі гематологічні показники не продемонстрували суттєвих змін.

На 30-й день лікування в групі дослідження відмічена значна (p<0,05) позитивна динаміка всіх гематологічних показників: підвищення рівня феритину сироватки до 19,2±3,0 мкг/л, збільшення коефіцієнту насичення трансферину залізом до 29,6±5,9%, зменшення відсотка гіпохромних еритроцитів до 3,4±0,3%, зростання концентрації Нб до 109,3±11,4 г/л, кількості еритроцитів – до 4,1±0,6×10¹²/л та зниження рівня ІЛ-6 до 14,8±3,0 пкг/мл. У групі порівняння також спостерігалася позитивна динаміка лабораторних тестів, але слід зазначити, що вона була менш вираженою. Статистично достовірна різниця (p<0,05) між групою дослідження (лактоферин) та групою порівняння (гідроксид заліза) на 30-й день виявлена за переважно більшістю показників, окрім вмісту Нб в ретикулоцитах та кількості еритроцитів.

Повільніше в групі порівняння підвищувався рівень Нб (92,3±16,2), феритину сироватки (10,2±1,7 мкг/л), а рівень експресії ІЛ-6 навіть підвищився (438±8,8 пкг/мл). Аналогічні тенденції в групі дослідження та групі порівняння зберігалися і на 45-й день лікування.

У контрольній групі суттєвих зрушень не виявлено.

На 60-й день (по закінченню курсу лікування) у групі дослідження у межах норми зафіксовано: феритин сироватки (34,1±4,8 мкг/л), коефіцієнт насичення трансферину залізом (39,9±7,4%), кількість еритроцитів (4,2±0,6×10¹²/л) та рівень Нб (121,4±13,7 г/л). До нормальних значень наблизилися процент гіпохромних еритроцитів (2,7±0,3%) та вміст Нб в ретикулоцитах (32,2±3,7 пг/клітину); зменшилася експресія ІЛ-6 (11,3±1,6 пкг/мл).

У групі порівняння після закінчення курсу терапії нормалізувалися рівень феритину сироватки (12,0±2,3 мкг/л) та коефіцієнт насичення трансферину залізом (20,9±3,0%). Відносно високим залишився відсоток гіпохромних еритроцитів (3,1±0,5%), дещо низьким – вміст Нб в ретикулоцитах (29,2±5,5 пг/клітину). На відміну від результатів у групі дослідження у пацієнтів групи порівняння не спостерігалася нормалізації кількості еритроцитів та Нб, а рівень ІЛ-6 залишився відносно високим.

Висновки

Аналізуючи отримані дані, можна окреслити основні відмінності результативності застосування екзогенного лактоферину та гідроксиду заліза у лікуванні залізодефіцитної анемії. Лактоферин знижує експресію ІЛ-6, в результаті депоноване

в ентероцитах і макрофагах залізо надходить у кровоносне русло, чого не відбувається при прийомі гідроксиду заліза. Більше того, гідроксид заліза подразнює слизову оболонку кишечника, тому рівень ІЛ-6 у пацієнтів групи порівняння залишається відносно високим. Унаслідок цього заблоковане гепсидином залізо не виходить з депо.

Більш виражена позитивна динаміка нормалізації гематологічних показників зафіксована у пацієнтів, які приймали лактоферин: уже на 30-й день лікування спостерігалася значне підвищення рівня феритину сироватки та зменшення відсотка гіпохромних еритроцитів, а рівень Нб зріс у середньому більш ніж на 20 одиниць – з 86,0±11,0 до 109,3±11,4 г/л. Це дуже важливо для повноцінної реабілітації хворих онкологічного профілю, зокрема після хірургічного лікування.

Практика підтверджує, що екзогенний лактоферин (Латоя) відіграє важливу роль у лікуванні анемічного синдрому у хворих онкологічного профілю. Включення Латої у раціон пацієнтів підліткового віку з анемічним синдромом після видалення пухлин опорно-рухового апарату у післяопераційний період можна вважати успішним: цей засіб продемонстрував клінічну ефективність та безпечність. Результати цієї роботи дають змогу рекомендувати екзогенний лактоферин як ефективний протианемічний засіб для застосування в онкологічній практиці.

На наш погляд, призначення екзогенного лактоферину може розглядатися як перспективна стратегія корекції залізодефіцитних станів у загальній хірургічній практиці та під час реабілітації пацієнтів у післяопераційному періоді.

Література

- Абрамов М.Е. Анемія на фоні хімотерапії. Пути корекції. Фармація. 2012; 8: 50-54.
- Левина А.А., Казюкова Т.В., Цветаєва Н.В. и др. Гепсидин как регулятор гомеостаза железа. Педиатрия. 2008; 87 (1): 67-74.
- Птушкин В.В. Анемия в онкологии: подходы к лечению. Современная онкология. 2012; 14 (1): 58-63.
- Adamson J. The anaemia of inflammation/malignancy: mechanism and management. Hematol. Am. Soc. Haematol. Educ. Program. 2008: 159-165.
- Fillet G., Beguin Y., Baldelli L. Model of reticuloendothelial iron metabolism in humans: abnormal behavior in idiopathic hemochromatosis and in inflammation. Blood. 1989 Aug 1; 74 (2): 844-851.
- Fillet G., Beguin Y. Monitoring of erythropoiesis by the serum transferrin receptor and erythropoietin. Acta Clin Belg. 2001 May-Jun; 56 (3): 146-154.
- Ganz T., Nemeth E. Hepsidin and iron homeostasis. Biochim Biophys Acta. 2012 Sep; 1823 (9): 1434-1443.
- Khouri J.D. Ewing sarcoma family of tumors. Adv Anat Pathol. 2005; 12: 212-220.
- Krause A., Neitz S., Magert H.J. et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. FEBS Lett. 2000 Sep 1; 480 (2-3): 147-150.
- Lee J.S., DuBois S.G., Boscardin W.J. et al. Secondary malignant neoplasms among children, adolescents, and young adults with osteosarcoma. Cancer. 2014 Dec 15; 120 (24): 3987-3993.
- Ludwig H., Van Belle S., Barret-Lee P. et al. The European Cancer Anaemia Survey (ECAS): A large, multinational, prospective survey defining the prevalence, incidence, and treatment of anaemia in cancer patients. Eur. J. Cancer. 2004; 40: 2293-2306.
- Nappi C., Tommaselli G.A., Morra I. et al. Efficacy and tolerability of oral bovine lactoferrin compared to ferrous sulfate in pregnant women with iron deficiency anemia: a prospective controlled randomized study. Acta Obstet Gynecol Scand. 2009; 88 (9): 1031-1035.
- Nemeth E., Rivera S., Gabayan V. et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. J. Clin. Invest. 2004; 113: 1271-1276.
- Paesano R., Pacifici E., Benedetti S. et al. Safety and efficacy of lactoferrin versus ferrous sulphate in curing iron deficiency and iron deficiency anaemia in hereditary thrombophilia pregnant women: an interventional study. Biometals. 2014 Oct; 27 (5): 999-1006.
- Paesano R., Torcia F., Berluti F. et al. Oral administration of lactoferrin increases hemoglobin and total serum iron in pregnant women. Biochem Cell Biol. 2006 Jun; 84 (3): 377-380.
- Steensma D.P. Is anaemia of cancer different from chemotherapy-induced anaemia. J. Clin. Oncol. 2008; 26: 1022-1024.