

Ivanka Savic

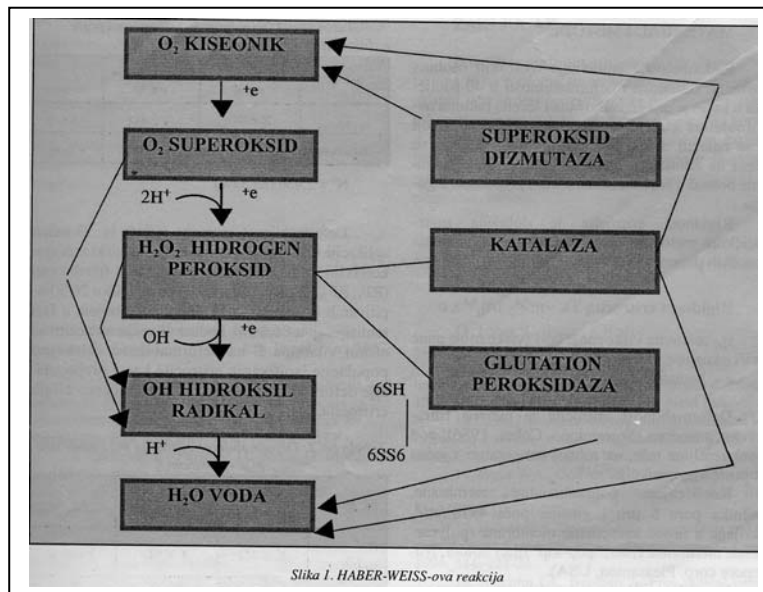
Klinika za hematologiju,
KC Novi Sad

TERAPIJSKI EFEKAT VITAMINA E KAO FARMAKOREOLOŠKOG LEKAIANTI-OKSIDANTA NA REOLOŠKE OSOBINE ERITROCITA U PACIJENATA SA AKUTNOM LEUKEMIJOM

UVOD

Vitamin E jedan je od najvažnijih lipidnih antioksidanata u organizmu koji štiti lipide membrane i druge ćelijske strukture (enzime, DNA, RNA) od oksidacije koja se vrši mehanizmima nastanka slobodnih radikala. Nastanak slobodnih radikala u ćelijama favorizuju fizički i hemijski agensi (jonizujuće zračenje, hemikalije, lekovi), stres i malignitet, mada se stvaraju i putem normalne oksidacije, metaboličkim procesima koji se stalno vrše u ćelijama.

Oksidizacija hemoglobina preko Haber-Weiss-ove reakcije dovodi do oslobađanja visoko toksičnih superdioksidnih anjona O_2^- , peroksida H_2O_2 i najmanje aktivnog hidroksil radikala OH . Prisutni oksidišući agensi precipitiraju nastanak tri vrste oštećenja eritrocita, od kojih svaki dovodi do smanjenja deformabilnosti:



1. Produkciju derivata koji oksidišu hemoglobin što rezultuje stvaranjem methemoglobina u povećanoj koncentraciji.
2. Oksidativno "premošćavanje" proteina membrane eritrocita - inter ili intra molekularno vezivanje spektrina i proteina 4.1, što povećava ri-gidnost membranskog skeletona i smanjuje deformabilnost eritrocita.
3. Peroksidaciju lipida membrane eritrocita što dovodi do:
 - a) asimetrije lipidnog dvosloja
 - b) smanjenje interreakcije sa membranskim skeletonom
 - c) inhibicije transmembranskog transporta an-jona, katjona i glukoze
 - d) smanjenja koncentracije ATP-a u eritrocitima
 - e) gubitka delova membrane

Haber-Weiss-ova reakcija oksidizacije hemoglobina se u obolelih od akutne leukemije vrši učestalije od fizioloških 2% sa povećanom produkcijom oksidanata.^{8,9,10} U okviru enzimskih defekata protein kinaze, glikozo 6-fosfatodehidrogenaze i 5 pirimidin nukleotidaze u akutnim leukemijama pokazano je i smanjenje eritrocitnih enzima superoksid dizmutaze i glutation perioksidaze.⁽¹¹⁾ Pogoršanju energetskog stausa doprinosi i smanjenje koncentracije ATP-a, koja može biti i negativna posledica plazminih činilaca - hipoksije i hipokapnije.^{<12>13)}

Organizam ima sistem odbrane protiv formiranja slobodnih radikala. On uključuje osim jedinje-nja tipa čistača slobodnih radikala (dimetil-sulfoksid, manitol), sulfhidrilnih jedinjenja za reparaciju i antioksidativne enzime, sadržane i u eritrocitima, koji mogu transformisati toksične lipidne hiperoskide u manje štetne hidrokside: selenijum zavisna glutation peroksidaza, katalaze i superoksid dizmutaze.⁽³¹⁴⁾ Antioksidantna jedinjenja, u koje spada i vitamin E, koji sinergistički deluje sa glutation peroksidazom, inhibiraju pokretanje slobodno-radikalskih reakcija, kao što je Haber-Weiss-ova reakcija u eritrocitima.

CILJ RADA

Cilj rada je bio dijagnostika efekta tridese-todnevne aplikacije peroralno davanog vitamina E (Tocopherol Forte megacaps. a 200 mg dnevno) u pacijenata sa akutnom leukemijom u fazi remisije, na reološke osobine eritrocita, rigidnost i deformabilnost.

MATERIJAL I METODE

Rad obuhvata ispitivanje reoloških osobina eritrocita: rigidnosti i deformabilnosti u 40 pacijenata u kojih je dijagnostikovana i lečena (akutna ne-limfoblastna leukemija i akutna limfoblastna) i koji su se nalazili u fazi remisije bolesti. Pacijenti su lečeni na Klinici za hematologiju, Instituta za interne bolesti u Novom Sadu, tokom poslednjih 5 godina.

Rigidnost eritrocita je dobijena matematičkom metodom po Dintefass-u, a iz poznatih reoloških parametara.⁽¹²⁾¹³⁾

Rigidnost eritrocita $Tk = r|r^{0.4} - 1/r_i^{0.4} \times c$

$r|_r$ - relativna viskoznost krvi (viskoznost pune krvi/viskoznost plazme) c - hematokrit

Deformabilnost eritrocita je merena filtra-cionom metodom (Sowemino - Coker, 1986), pod silom zemljine teže, na sobnoj temperaturi i jedan sat posle venepunkcije.^(12>13)

Korišćenjem polikarbonatne membrane, prečnika pora 5 (im i gustine pora $4 \times 10^5/cm^2$, stavljene u nosač karbonatne membrane (polvcar-bonate membrane filter, "pop-top" filter holder, Nu-clepore corp. Pleasanton, USA).

Upoređivanjem brzine proticanja suspenzije opranih eritrocita u fosfatnom puferu (pH 7,4, osmo-larnost 280 mOsm/l) i srednje vrednosti brzine proticanja pufera dobijeni su rezultati izraženi kroz parametre relativne filtrabilnosti.⁽¹²⁾¹³⁾

RFj - odražava relativnu brzinu proticanja mladih, bolje savitljivih eritrocita; (normalno do 3,5)

RF₂ - uključuje celu populaciju eritrocita (normalne vrednosti su dvostruko veće od RFj)

- Povećanje RFj i RF₂ ukazuje na smanjenje filtrabilnosti eritrocita, takođe smanjenje njihove deformabilnosti.

- RF₂/RF₁ pokazuje udeo manje deformabilnosti eritrocita u celokupnoj populaciji.
- Povećan odnos ukazuje na postojanje veće subpopulacije manje savitljivih eritrocita u celokupnoj populaciji.^{<12,13)}

REZULTATI ISPITIVANJA

Rigidnost eritrocita (tabela br. 1) statistički je značajno ($p < 0,01$) smanjena nakon tridesetodnevne aplikacije megacaps. Tocopherol-a Forte a 200 mg jednom dnevno u 25/30 pacijenata, tj. u 83,33%.

Tabela br. 1: Rigidnost eritrocita pre i posle terapije vitaminom E

N°30	Pre terapije vit.E	Posle terapije vit.E	
Tk	X±SD	X±SD	T test-p
Rigidnost	1,38 ±0,30	1,02 ±0,12	<0,01

N^u = 25/30 (83,33%)

Deformabilnost eritrocita (tabela br. 2) nakon aplikacije vitamina E ukazala je na statistički značajnu korekciju svih ispitivanih parametara filtrabilnosti (RF₁₅, RF₂, RF₂/RF₁) od $p < 0,01$ do $p < 0,06$ u 26/30 ispitivanih bolesnika sa akutnom leukemijom u fazi remisije, tj. u 86,66%. Podaci ukazuju na pozitivan efekat vitamina E na deformabilnost celokupne populacije ispitivanih eritrocita kao i subpopulacije deformabilnijih i onih manje deforma- bilnih eritrocita.

Tabela br. 2: Deformabilnost eritrocita pre i posle terapije vitaminom E

N°3D	Pre terapije vit. E	Posle terapije vit E	
Rel. fil- trabilnost	X±SD	X + SD	T test-p
RF ₁₅	3,62 ± 0,48	2,41 ± 0,82	<0,01
RF ₂	7,36 ± 0,86	4,42 ±1,87	<0,01
: RF ₂ /RF ₁₅	2,03 ± 0,21	1,82 ±0,12	<0,06

N° = 26/30 (86,66%)

DISKUSIJA

Deformabilnost eritrocita, kao njihova osobina, koja im omogućava prolaz kroz kapilare prečnika ispod 4 um i da se pri tome podvrgnu deformaciji, determinisana je, osim plazmatskim činiocima, celularnim komponentama: deformabilnošću same membrane eritrocita, oblikom ćelije i unutrašnjom viskoznošću.⁽¹³⁾

Positivno dejstvo vitamina E na reološke osobine eritrocita moglo bi se objasniti njegovom ulogom u odstranjivanju toksičnih radikala - predajom atoma H⁺, slobodnom radikalima ili peroksidnom radikalima, sprečavajući na taj način razvoj lančane Haber- Weiss-ove reakcije/^{3+4+15-16-17,}

Literaturni podaci ukazuju na dejstvo vitamina E u pravcu očuvanja oblika eritrocita smanjenjem nastanka eritrocitne transformacije eritrocita¹⁸

Kitabachi je 1987. god. ukazao na omogućavanje normalnog rada adenil-ciklaze u eritrocitima pod dejstvom vitamina E, što poboljšava narušeni enzimski status eritrocita i u pacijenata sa akutnom leukemijom/^{19,}

Na metabolički status eritrocita vitamin E utiče pozitivno tako što omogućava povećanje transmembranskog transporta kiseonika.⁽⁷⁺²⁰⁾

ZAKLJUČAK

Povoljni preliminarni rezultati dejstva vitamina E na reološki status eritrocita u obolelih od akutne leukemije, postavljaju za hematologe zadatak testiranja ovog leka kroz duži vremenski period u većeg broja bolesnika i to u različitim fazama bolesti, sa željom da se i ovim vidom farmako-reološke terapije unapredi lečenje bolesnika sa akutnom leukemijom.

LITERATURA

1. Cross CE, Moderator. Oxygen radicals and human disease (Daviš Conference). *Ann. Intern. Med.* 1987; 107: 526-45.
2. Sinho BK., Mimmaugh EG. Free radicals and anticancer drug resistance: oxygen free radicals in the mechanisms of drug cytotoxicity and resistance by cer-tain tumors. *Free Rad. Biol. Med.* 1990; 8: 567-81.
3. Dorđević V., Pavlović D., Kocić G. Biohemija slobodnih radikala. Monografija, Niš 2000.
4. Misra HP., Fridovich I. The generation of super-oxyde radical during the autooxidation of hemoglobin. *J.Biol. Chem.* 1972; 247:6960-2.
5. Niki E. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem. Pays Lipids* 1987; 44: 227-53.
6. Frei B., Stocker R., Ames BN. Antioxidant defence and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* 1988; 85: 9748-52.
7. Wayner DDM., Burton GW., Ingold KU., Barclay L RC, Locke SJ. The relative contributions of Vitamin E ascorbate and proteins to the total peroxy radical trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochem. Biophys. Acta* 1987;924: 408-19.
8. Bawick M., Coutie W., Tudhope GR. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in the cells of patients with malignant disease. *Br. J.Haematol.* 1987; 65:347-50.
9. Subrahmanyam W., Ross D., Eastmond DA., Smith MT. Potential role of free radicals in the benzene-induced myelotoxicity and leukemia. *Free Rad.Biol.Med.* 1991; 11:495-515.
10. Gey KF., Brubacher GB., Stahelin HB. Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischaemic heart disease and cancer. *Am. J. Clin. Nutr.* 1987;45:1368-77.
11. Labar B., Bulum J. Red cell pyruvate kinase in acute leukemia. *Enzyme* 1984;32.
12. Sabo A. Delovanje tokoferola i derivata K vitamina na reološke osobine krvi. Doktorska disertacija 1988, Medicinski fakultet, Univerzitet Novi Sad.
13. Savić I. Hemoreološke promene u akutnim leukemijama i njihov značaj, Magistarski rad 1990, Medicinski fakultet, Univerzitet Novi Sad.
14. Pryor WA., Godber SS. Noninvasive measures of oxydative stress status in humans. *Free Rad. Biol. Med.* 1991; 10:177-84.
15. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, cause or consequence? *Lancet* 1994; 344: 721-24.
16. Machlin LJ., Bendich A. Free radical tissue damage: Protective roles of antioxidant nutrients. *Faseb J.* 1987; 1: 441-5.
17. Burton GW., Joyce A, Ingold KU. Is vitamin E the only lipid soluble, chain breaking antioxidant in human blood plasma and in erythrocyte membranes? *Arch. Biochem. Biophys.* 1983; 221: 281-90.
18. Kon K., Maeda N., Suda T., Sekyia M., Shiga T. Protective effect of alpha Tocopherol on the morphological and rheological changes of red cells. *Acta Hae-mat.* 1982; 69:111-16.
19. Kitabachi A., Wimalasena J., Specific binding sites for D alpha Tocopherol in humane eritrocytes. *Biochem. et biophys. Acta* 1987;684: 200-4.
20. Butturini U. Vitamins E and A in vasculare disease. *Acta Vitaminol. Enzimol.* 1982; 4: 15-19.