



národní  
úložiště  
šedé  
literatury

**Vliv dlouhodobého podávání Ovosanu na hematologické parametry a zastoupení imunitních buněk u onkologických pacientů**

Horák, Vratislav  
2011

Dostupný z <http://www.nusl.cz/ntk/nusl-96335>

Dílo je chráněno podle autorského zákona č. 121/2000 Sb.

Tento dokument byl stažen z Národního úložiště šedé literatury (NUŠL).

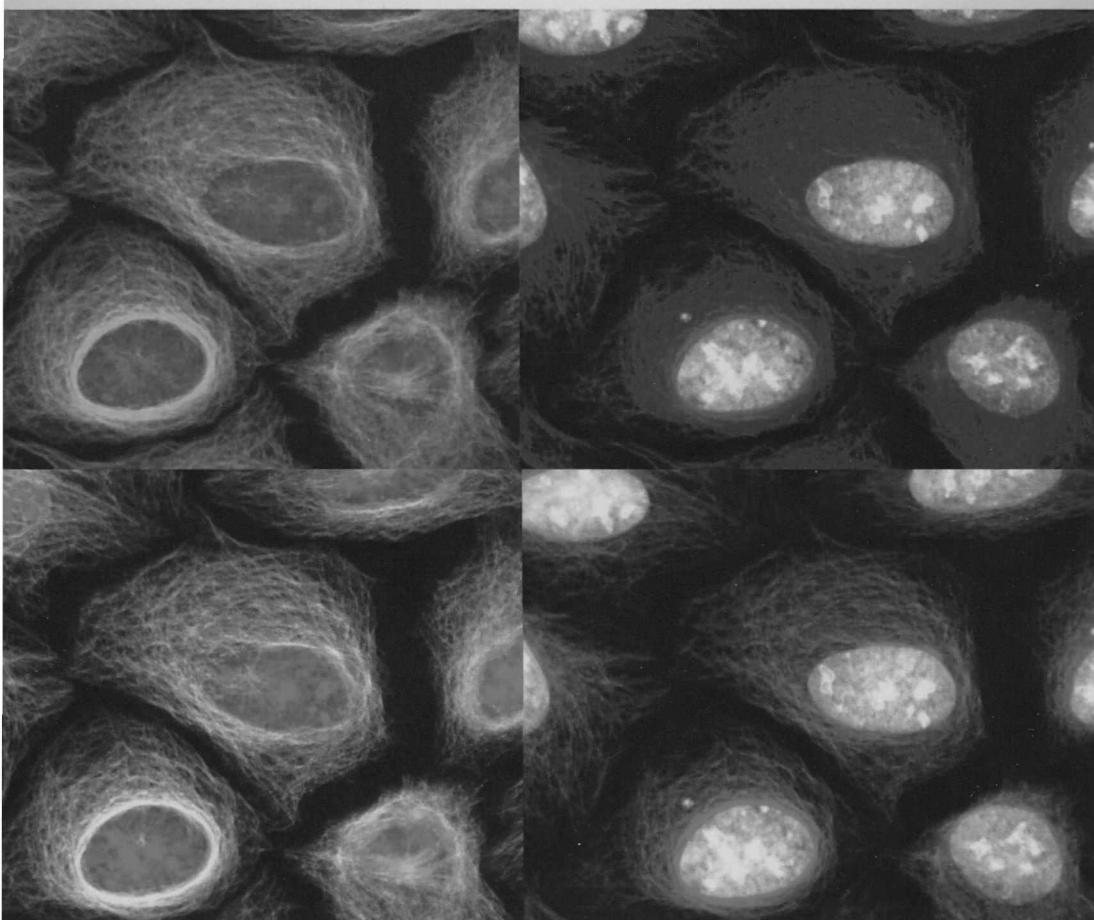
Datum stažení: 11.06.2024

Další dokumenty můžete najít prostřednictvím vyhledávacího rozhraní [nusl.cz](http://nusl.cz).

# **Sborník**

## **k semináři společnosti Areko®**

### **Výzkum BAF® 2010**



 AREKO®

VÝZKUM, VÝVOJ A VÝROBA BIOLOGICKY AKTIVNÍCH FOSFOLIPIDŮ

[www.areko.eu](http://www.areko.eu)



Vratislav Horák

# **Vliv dlouhodobého podávání Ovosanu na hematologické parametry a zastoupení imunitních buněk u onkologických pacientů**

**Vratislav Horák<sup>1</sup>, Monika Holubová<sup>1</sup> a Eva Pokorná<sup>2</sup>**

<sup>1)</sup>Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i., 277 21 Liběchov

<sup>2)</sup>Areko, spol. s r.o., 148 25 Praha 4

## **ÚVOD**

Přes rozsáhlý celosvětový výzkum a nové terapeutické postupy představují nádorová onemocnění druhou nejčastější příčinou úmrtí. Podle webového portálu „Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice“, který zpracovává údaje Národního onkologického registru od roku 1977 pomocí softwaru SVOD (<http://www.svod.cz>) je zřejmé, že u některých diagnóz (např. karcinom pankreatu) je v tomto období patrný výrazný nárůst incidence i mortality. V porovnání se zahraničím obsadila Česká republika v některých případech (např. incidence karcinomu tlustého střeva a konečníku u mužů) nelichotivé první místo.

Standardní léčebný postup nádorových onemocnění představuje obvykle excisi nádorů. Ta bývá následně běžně doplněna chemoterapií nebo radioterapií, což často přináší nežádoucí vedlejší účinky. Pro jejich zmírnění jsou doporučovány různé komerčně dostupné preparáty. Jedním z nich je Ovosan (<http://www.ovosan.cz>), který vyrábí firma Areko, spol. s r.o. Praha. Jedná se o potravinový doplněk, který obsahuje směs biologicky aktivních fosfolipidů na přírodní bázi. Je doporučován pro celkové zlepšení zdravotního stavu, urychlení regenerace organismu, podporu funkce imunitního systému a potlačení nežádoucích vedlejších účinků chemoterapie nebo radioterapie. Cílem této studie bylo sledovat, jak se u onkologicky nemocných pacientů projeví dlouhodobé perorální podávání Ovosanu na hematologické parametry a na podporu imunitního systému (zastoupení imunitních buněk v periferní krvi).

## MATERIÁL A METODIKY

Studie probíhá dva roky - od počátku dubna 2009 do současné doby. Postupně do ní bylo zařazeno 53 pacientů obou pohlaví. Celá skupina pacientů je výrazně heterogenní pokud jde o stáří (48-73 let), typ a stádium nádorového onemocnění (převládal karcinom pankreatu a prsu), standardní způsob a délku jeho léčby, denní dávkování Ovosanu a dobu jeho aplikace, případně další zdravotní problémy. To celkově výrazně komplikuje vyhodnocení celé studie a provedení obecnějších závěrů ohledně účinku Ovosanu na sledované parametry.

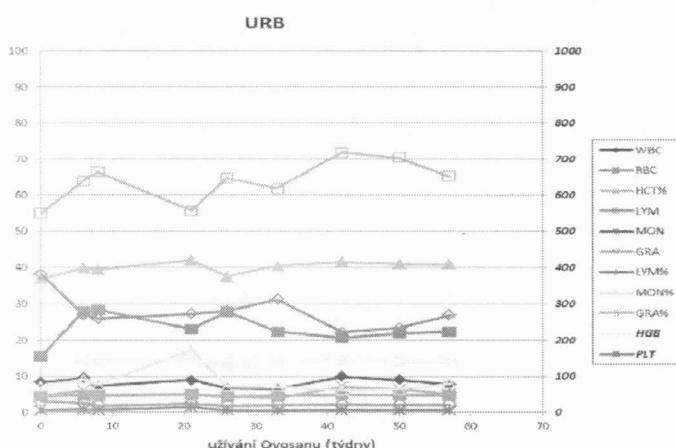
Pro analýzy jsou s informovaným souhlasem pacientů odebírány vzorky nesrážlivé periferní krve (cca 1 ml) do PE-zkumavek potažených K3EDTA (Vacvette). První odběr byl proveden před zahájením podávání Ovosanu. Následně jsou pak zhruba v intervalu 1-2 měsíce (v závislosti na aktuálním zdravotním stavu a na probíhající standardní léčbě) prováděny opakované odběry. Pomocí hematologického analyzátoru Mythic 18 (Orphée S.A., Švýcarsko) jsou sledovány následující hematologické parametry: počet leukocytů (WBC,  $10^9/l$ ), počet lymfocytů (LYM,  $10^9/l$ ) a procentické zastoupení, počet monocytů (MON,  $10^9/l$ ) a procentické zastoupení, počet granulocytů (GRA,  $10^9/l$ ) a procentické zastoupení, počet erytrocytů (RBC,  $10^{12}/l$ ), koncentrace hemoglobinu (HGB, g/l), hematokrit (HCT, %) a počet trombocytů (PLT,  $10^9/l$ ).

Paralelně je ve stejných vzorcích krve stanovován průtokovou cytometrií podíl různých subpopulací lymfocytů detekovaných na základě exprese dvou CD-znaků. Směs dvou nařízených 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) byla inkubována s  $10\mu l$  nesrážlivé krve (v lednici 30 min.). Poté bylo přidáno  $200\mu l$  roztoku Easy Lyse (Dako, Dánsko; 10 min.) pro lýzu erytrocytů, následně  $10\mu l$  roztoku propidium jodidu (PI) a okamžitě byla pro-

váděna analýza přístrojem FACS Calibur (Becton Dickinson, CA, USA). Vyhodnocení získaných dat bylo provedeno programem Flow Jo (Tree Star, Inc., OR, USA). Pomocné T lymfocyty (Th – T helper) byly charakterizované jako CD3+ CD4+, cytotoxické lymfocyty (CTL) jako CD3+ CD8+, NK buňky jako CD3- CD56+, NKT buňky jako CD3+ CD56+, B lymfocyty jako CD3- CD19+ a T lymfocyty jako CD3+ CD19-. Pro detekci T regulačních buněk (T reg) jsme použili kombinaci anti-CD4/FITC + anti-Foxp3/PE (eBioscience, CA, USA) a roztoky pro fixaci a permeabilizaci buněk podle údajů výrobce (eBioscience). T reg vykazovaly expresi CD4+ Foxp3+.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

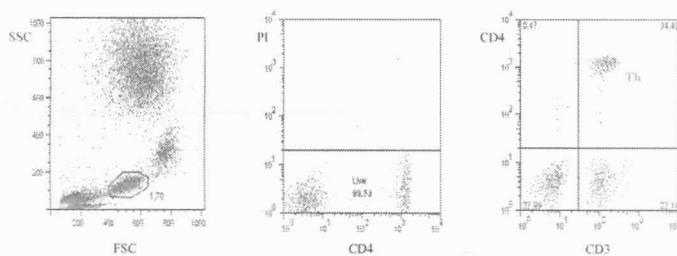
Ve sledovaných parametrech jsou mezi pacienty často zřetelné rozdíly, i když se jedná o tutéž diagnózou a podobný průběh nádorového onemocnění. Z tohoto důvodu nelze provádět summarizaci výsledků za celý soubor pacientů, ale je vhodnější posuzovat získané údaje v průběhu pozorování jednotlivých pacientů. Analýzy z druhého roku studie zatím nejsou dokončené. V komplexní formě budou výsledky dosažené za oba dva roky prezentované na semináři společnosti Areko „Výzkum BAF 2010“ 3. 5. 2011. Z dosud získaných dat je patrné, že hodnoty jednotlivých hematologických parametrů jsou obecně poněkud nižší a často se pohybují na dolní hranici normálních hodnot.



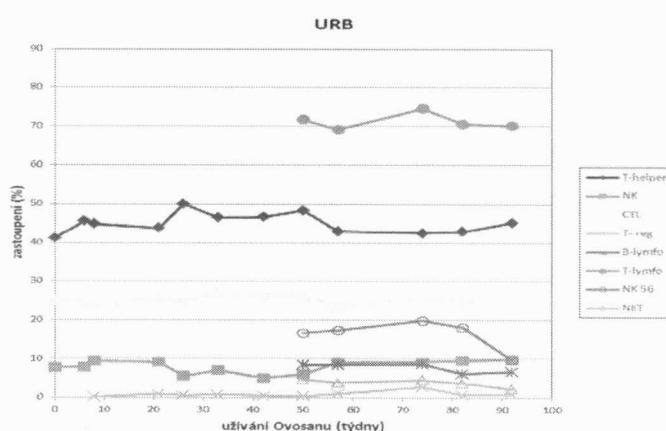
**Graf 1: Výsledky hematologických analýz u pacienta (URB) s karcinomem pankreatu. Hodnoty na pravé ose y se týkají koncentrace hemoglobinu (HGB) a počtu trombocytů (PLT)**

Zastoupení subpopulací lymfocytů sledované průtokovou cytometrií se pohybuje v celém rozmezí normálních hodnot. U některých pacientů je ale podíl CTL a Th výrazně nižší než normální hodnoty. Zatím získané výsledky nevykazují výraznější ovlivnění studio-

vaných parametrů podávaným Ovosanem. Nebylo rovněž pozorováno žádné výraznější zvýšení podílu subpopulací lymfocytů, které by signalizovalo podporu imunitního systému. Za určitý pozitivní účinek je možné považovat značnou stabilitu krevního obrazu, kterou jsme zaznamenali u některých pacientů (Graf 1). Podobný jev jsme pozorovali rovněž v zastoupení subpopulací lymfocytů (Graf 2). Stabilita ve sledovaných parametrech byla zachována i v případě aplikace chemoterapie jako součásti standardní léčby nádorového onemocnění (u pacienta URB zhruba v první třetině sledovaného období). Ta by za normálních okolností (bez podávání Ovosanu) vedla ke známému supresivnímu efektu na buňky imunitního systému a další buněčné komponenty krve. Znamená to, že Ovosan vykazuje v tomto směru určitý podpůrný a protektivní efekt.



Obr. 1: Ukázka analýzy údajů programem FlowJo při detekci pomocných T lymfocytů (Th)



Graf 2: Výsledky průtokové cytometrie u pacienta (URB) s karcinomem pankreatu.

## PODĚKOVÁNÍ

Tato studie vznikla za finanční podpory firmy Areko, s.r.o. Praha a výzkumného zájmu ÚZFG AV ČR č. AV0Z50450515. Autoři děkují paní Jitce Klučinové a paní Jaroslavě Šestákové za výbornou technickou asistenci při prováděných analýzách a grafickém zpracování výsledků.