

А. П. Бурлака¹, В. В. Голотюк², А. В. Вовк¹, С. М. Лукін¹, Є. П. Сидорик¹
ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ
ІМЕНІ Р. Є. КАВЕЦЬКОГО НАН УКРАЇНИ¹, КИЇВ
ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ²

РЕДОКС-СТАН КРОВІ ТА ВИЖИВАНІСТЬ ХВОРИХ НА РАК ПРЯМОЇ КИШКИ

Клітини організму містять визначену концентрацію електронів, які характеризують їх стабільний окисно-відновний (редокс) стан. Електрони транспортуються на кисень і формують потенційну енергію для реалізації функцій клітин – росту й апоптозу. Порушення рівноваги в редокс-стані клітин ініціює розвиток та прогресування основних соціально значущих патологій.

Метою даної роботи було дослідити редокс-стан крові хворих на рак прямої кишки (РПК) (рівні церулоплазміну (ЦП), трансферину (ТФ) та "вільного заліза" ("ВЗ"), супероксид- і NO-генеруючу активність нейтрофілів і тромбоцитів) та його вплив на загальну виживаність (ЗВ).

Досліджено зразки венозної крові 60 хворих на РПК (T2-4N0-2M0G2) та 20 донорів. Рівні ЦП, ТФ, "ВЗ" у крові визначали методом електронного парамагнітного резонансу за температури рідкого азоту (T=77 K).

Редокс-стан крові хворих на РПК формується: зниженням удвічі активності ЦП порівняно з контролем; зменшенням у 3 рази вмісту ТФ і зростанням у 10 разів рівня "ВЗ"; незначним підвищенням супероксид-генеруючої активності нейтрофілів та у 8–14 разів – тромбоцитів; зниженням швидкості генерування NO в 3,7 та 4,3 рази нейтрофілами і тромбоцитами відповідно. Відзначено достовірний вплив на виживаність пацієнтів із РПК активності ЦП (p<0,044), рівня "ВЗ" (p<0,026), супероксид-генеруючої активності НАДФ-Н-оксидази нейтрофілів (p<0,043).

Встановлено, що у хворих на РПК (T2-4N0-2M0G2) розвиток аденокарциноми супроводжується зміною редокс-стану крові за рахунок зниження активності ЦП та вмісту ТФ, що призводить до появи "ВЗ" і зростання його рівня. Разом із тим, важливу роль у порушенні редокс-стану крові цих пацієнтів відіграють зміни супероксид- та NO-генеруючої активності НАДФ-Н-оксидази й індукцибельної NO-синтази нейтрофілів і тромбоцитів. Стан редокс-формуючих складових крові хворих корелює із загальною 5-річною виживаністю. Відмічено достовірний вплив на ЗВ активності ЦП, вмісту "ВЗ" та супероксид-генеруючої активності НАДФ-Н-оксидази нейтрофілів і тромбоцитів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: рак прямої кишки, церулоплазмін, трансферин, "вільне залізо", супероксид- і NO-генеруюча активність нейтрофілів та тромбоцитів.

ВСТУП. Клітини організму містять визначену концентрацію електронів, які характеризують їх стабільний окисно-відновний (редокс) стан. Електрони транспортуються на кисень і формують потенційну енергію для реалізації функцій клітин – росту й апоптозу. Порушення рівноваги в редокс-стані клітин ініціює розвиток та прогресування основних соціально значущих патологій. Головними редокс-формуючими складовими крові є білки, які можуть приймати/віддавати та генерувати електрони: церулоплазмін (ЦП), трансферин (ТФ), "вільне залізо" ("ВЗ"), НАДФ-Н-оксидаза й індукцибельна NO-синтаза (iNOS) нейтрофілів і тромбоцитів.

Церулоплазмін людини є глікопротеїном з молекулярною масою 132 кДа і містить шість

© А. П. Бурлака, В. В. Голотюк, А. В. Вовк, С. М. Лукін, Є. П. Сидорик, 2015.

іонів міді. У спектрі електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) ЦП характеризується сигналом від Cu типу II з g=2,05. Церулоплазмін – багатофункціональний білок "гострої фази" з амінооксидазною, супероксиддисмутазною та ферооксидазною активністю. Каталізує окиснення Fe²⁺ до Fe³⁺ при завантаженні апо-трансферину залізом, а також реокиснює Cu⁺ в Cu²⁺. Трансферин – глікопротеїд, який забезпечує залізом клітини тканин, синтез гемових та негемових залізовмісних білків. Рівень ТФ визначається інтенсивністю сигналу ЕПР з g=4,25. За розвитку злоякісних пухлин у крові та клітинах тканин зростає вміст "вільного заліза", причому на ранніх стадіях процесу внаслідок декомпартменталізації іонів заліза з феритину і деструкції інших гемових

та негемових залізовмісних білків. При ЕПР детекції "ВЗ" його концентрація визначається інтенсивністю сигналу з $g=2,2-2,4$. Нейтрофіли та тромбоцити розглядають як важливі проти- і пропухлинні фактори формування та розвитку пухлин. Стимуляція тромбоцитів та нейтрофілів проявляється генеруванням супероксидних радикалів НАДФ·Н-оксидазою та оксиду азоту NO-синтазою. НАДФ·Н-оксидаза функціонує у мембранах нейтрофілів та тромбоцитів, а при їх активації експресується каталітична субодинаця ферменту $gp91^{phox}$, яка в подальшому регулює генерування супероксидних радикалів. Іншими складовими НАДФ·Н-оксидази є $p47^{phox}$, $p67^{phox}$ і Rac [1–5].

Метою роботи було дослідити редокс-стан крові хворих на рак прямої кишки (РПК) (рівні ЦП, ТФ та "ВЗ", супероксид- і NO-генеруючу активність нейтрофілів і тромбоцитів) та його вплив на загальну виживаність (ЗВ).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліджено зразки венозної крові 60 хворих (34 чоловіки і 26 жінок, середній вік – $(63 \pm 1,3)$ року) з аденокарциномою прямої кишки II–III стадій (T2-4N0-2M0G2), які перебували на лікуванні в Івано-Франківському обласному клінічному онкологічному диспансері. У всіх пацієнтів діагноз, стадію захворювання і наявність метастазів верифіковано відповідно до вимог доказової медицини (в ході відповідних клініко-інструментальних обстежень, морфологічно). Дослідження виконували згідно з принципами проведення біомедичних досліджень за участю людей, які викладено в Гельсінській декларації Всесвітньої медичної асоціації.

Рівні ЦП, ТФ та "ВЗ" у крові хворих досліджували на комп'ютеризованому ЕПР-спектрометрі PE-1307 за температури рідкого азоту ($T=77$ K) [3]. Для цього в пробірку з 0,2 мл розчину трилону Б (3 %) наливали 0,5 мл венозної крові, взятої з ліктьової вени, і заморожували у спеціальній прес-формі в рідкому азоті.

Нейтрофіли виділяли з венозної крові на розчині трилону Б (3 %) за стандартною методикою на градієнті щільності фікол/верографін [6]. Тромбоцити виділяли відповідно до методики, описаної в роботі [7]. 250 мкл очищеної фракції нейтрофілів і тромбоцитів використовували для визначення рівнів швидкості генерування супероксидних радикалів та NO. Супероксид-генеруючу активність НАДФ·Н-оксидази досліджували методом ЕПР із застосуванням спінових уловлювачів: 1-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-4-оксипіперидину при кімнатній температурі. Швидкість генерування оксиду азоту індукційно визначали мето-

дом ЕПР та за допомогою технології "Spin Traps" при температурі 77 K. Як спіновий уловлювач застосовували діетилдитіокарбамат ("Sigma") [8]. Контролем слугували визначені показники 20 практично здорових людей (9 чоловіків, 11 жінок віком 50–58 років). Виживаність хворих аналізували за методом Каплана–Мейера, для парних порівнянь використовували *log-rank* критерій [9]. Статистичний аналіз проводили із застосуванням прикладних ліцензійних програм GraphPadPrism 6 та Origin 7.0. Різницю між показниками вважали достовірною при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На рисунку 1 наведено спектри ЕПР крові донора (1) та хворого на РПК (2). У спектрах ЕПР 1, 2 виявлено сигнали ЕПР з $g=2,05$, $g=4,25$, інтенсивність яких відповідала активності ЦП та вмісту ТФ. У крові хворих, крім цього, виявлено високий вміст метгемоглобіну ($g=6,3$) та "ВЗ", рівень якого відображав широкий сигнал ЕПР з $g=2,2-2,4$.

На рисунку 2 наведено дані щодо вмісту ЦП і ТФ у крові донорів та хворих на РПК. Визначений нами рівень ЦП у крові пацієнтів становив у середньому $(0,42 \pm 0,005)$ відн. од., що вдвічі менше ($p < 0,05$) порівняно з донорами ($(0,82 \pm 0,007)$ відн. од.). Зниження рівня ЦП, його каталітичної, супероксиддисмутазної та ферооксидазної активності у хворих на РПК порушувало редокс-стан крові.

Отримані дані щодо вмісту ТФ у цих хворих свідчать про його зниження у 3 рази ($(0,23 \pm 0,007)$ відн. од.) порівняно з показниками донорів ($(0,76 \pm 0,01)$ відн. од.). При зменшенні вмісту ТФ у крові хворих порушується транспорт іонів заліза до місць його утилізації та синтезу гемових і негемових білків, що сприяє формуванню окисного фенотипу пухлини та її проліферації. Редокс-стан крові також визначається рівнем ТФ, його здатністю до зв'язування та транспортуван-

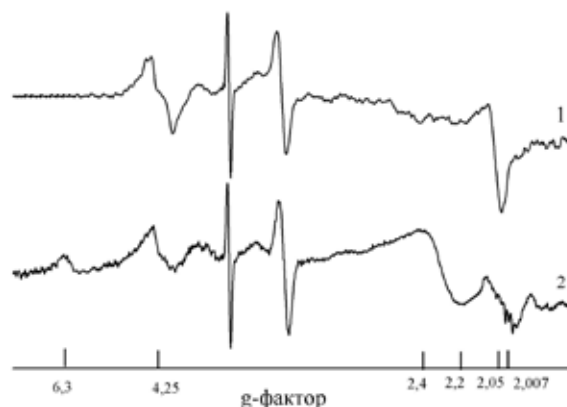


Рис. 1. Спектри ЕПР крові донора (1) та хворого на РПК (2) при температурі рідкого азоту (77 K).

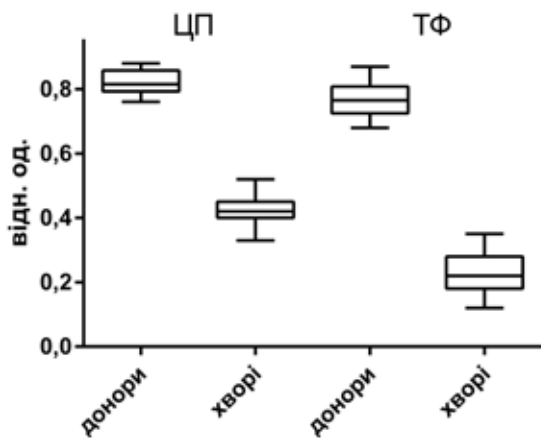


Рис. 2. Активність ЦП і вміст ТФ у крові донорів та хворих на РПК.

ня іонів Fe^{3+} і, тим самим, запобігання ініціації реакції Фентона з утворенням гідроксильних радикалів, для детоксикації яких в організмі не існує механізмів:



Проаналізовано 5-річну ЗВ хворих залежно від активності ЦП (рис. 3). У хворих ($n=34$), в яких активність ферменту була $>0,42$ відн. од., 5-річна ЗВ становила 60 %, медіани виживаності (МВ) не досягнуто. У пацієнтів ($n=26$) з нижчою активністю ЦП ($<0,42$ відн. од.) ЗВ складала 28 %, МВ – 23 міс.; $\chi^2=4,08$, $p=0,044$.

Аналіз 5-річної ЗВ хворих на РПК залежно від вмісту ТФ показав, що краща вона в підгрупах пацієнтів з вищим рівнем ТФ (рис. 4), тоді як у підгрупі ($n=29$), в якій вміст ТФ у крові $>0,22$ відн. од., МВ не досягнуто, ЗВ – більше 60 %. У підгрупі ($n=31$) з рівнем ТФ $<0,22$ відн. од. вона становила 27 міс. (log-rank тест, $\chi^2=3,16$, $p=0,076$).

У крові хворих (рис. 5) було зареєстровано появу "ВЗ" та зростання його рівня в 10 разів ($(0,25 \pm 0,07)$ відн. од.) порівняно з донорами ($(0,027 \pm 0,01)$ відн. од.), $p < 0,05$.

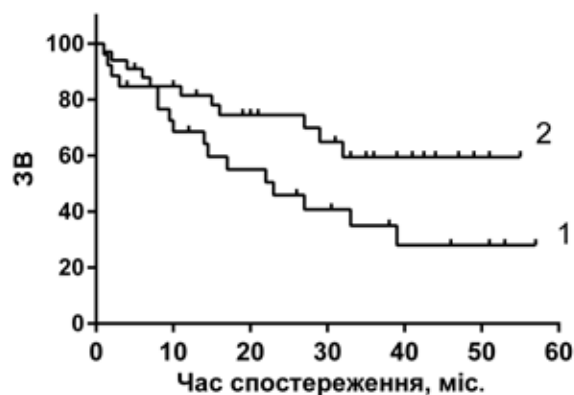


Рис. 3. Загальна виживаність хворих на РПК залежно від активності ЦП: 1 – $<0,42$ відн. од.; 2 – $>0,42$ відн. од. Оцінка за Капланом–Мейєром, log-rank тест, $p=0,044$.

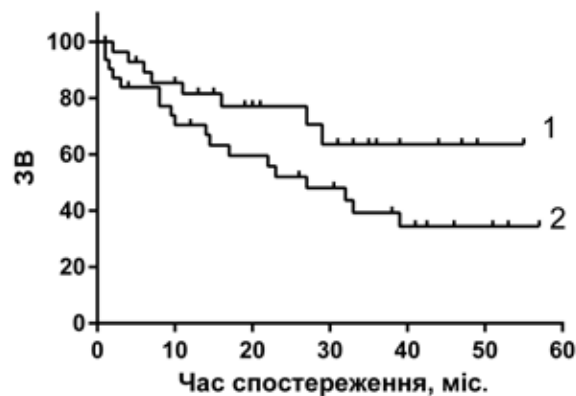


Рис. 4. Загальна виживаність хворих на РПК залежно від вмісту ТФ у крові: 1 – $>0,22$ відн. од.; 2 – $<0,22$ відн. од. Оцінка за Капланом–Мейєром, log-rank тест, $p=0,076$.

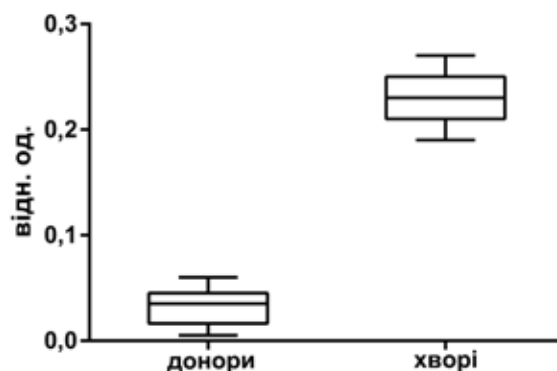


Рис. 5. Рівень "ВЗ" у крові донорів та хворих на РПК.

Проаналізовано 5-річну ЗВ хворих залежно від вмісту "ВЗ". У пацієнтів ($n=33$), в яких рівень "ВЗ" $<0,23$ відн. од., 5-річна ЗВ становила 58 %, МВ не досягнуто. У хворих ($n=27$) з вищим вмістом "ВЗ" ($>0,23$ відн. од.) ЗВ складала 30 %, МВ – 17 міс.; $\chi^2=4,96$, $p=0,026$ (рис. 6).

Зростання рівня "ВЗ" в організмі хворих з урахуванням його високого прооксидантного потенціалу може призвести до посилення

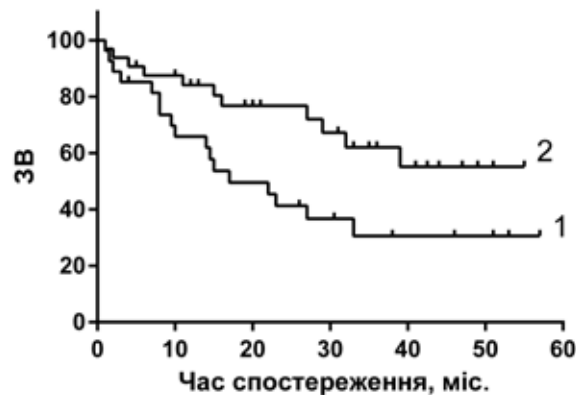


Рис. 6. Загальна виживаність хворих на РПК залежно від вмісту "ВЗ": 1 – $>0,23$ відн. од.; 2 – $<0,23$ відн. од. Оцінка за Капланом–Мейєром, log-rank тест, $p=0,026$.

окисного фенотипу новоутворення, що сприяє прогресуванню захворювання.

На рисунку 7 наведено дані щодо швидкості генерування супероксидних радикалів НАДФ-Н-оксидазою та оксиду азоту iNOS тромбоцитів. У практично здорових людей цей показник становив $(0,250 \pm 0,001)$ нМ/10⁵ клітин·хв, тоді як у хворих на РПК – $(2,67 \pm 0,08)$ нМ/10⁵ клітин·хв (від 1,75 до 3,95 нМ/10⁵ клітин·хв). Тобто супероксид-генеруюча активність тромбоцитів у хворих на РПК у 8,0–14,0 ($p < 0,001$) разів перевищувала контрольні значення. Умовно за цим показником хворих можна поділити на три групи: з високою активністю – $>3,20$ ($3,45 \pm 0,11$) нМ/10⁵ клітин·хв ($n=11$); з помірною активністю – 2,50–3,2 ($2,75 \pm 0,03$, $p < 0,05$) нМ/10⁵ клітин·хв ($n=18$); з низькою активністю – $<2,5$ ($<2,35 \pm 0,05$, $p < 0,05$) нМ/10⁵ клітин·хв ($n=21$).

Рівень швидкості генерування оксиду азоту iNOS тромбоцитів у донорів становив $(1,51 \pm 0,02)$ нМ/10⁵ клітин·хв, у хворих на РПК визначався в межах 0,25–0,49 нМ/10⁵ клітин·хв ($0,34 \pm 0,01$, $p < 0,01$ порівняно з контролем).

У хворих з високою активністю НАДФ-Н-оксидази ($>3,20$ нМ/10⁵ клітин·хв) 5-річна ЗВ становила 39 % з медіаною 22 міс., за помірної (2,5–3,0 нМ/10⁵ клітин·хв) та низької ($<2,35$ нМ/10⁵ клітин·хв) супероксид-генеруючої активності ферменту – 56 і 62 % відповідно (медіани ЗВ у цих підгрупах не досягнуто); $\chi^2=0,88$, $p=0,35$ (рис. 8).

Аналіз 5-річної ЗВ хворих на РПК залежно від швидкості генерування NO показав, що в підгрупі з більшою активністю iNOS ($>0,34$ нМ/10⁵ клітин·хв) ЗВ складала 64 %, медіани не досягнуто, а в підгрупі з активністю iNOS $\leq 0,34$ нМ/10⁵ клітин·хв вона становила 29 міс., при цьому статистично достовірної різниці не виявлено (log-rank тест, $p=0,4$) [10–13].

На рисунку 9 наведено дані щодо швидкості генерування O₂⁻ НАДФ-Н-оксидазою та оксиду

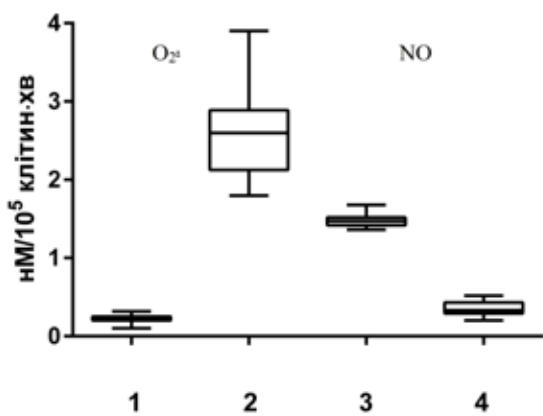


Рис. 7. Супероксид- та NO-генеруюча активність тромбоцитів у донорів (1, 3) та хворих на РПК (2, 4).

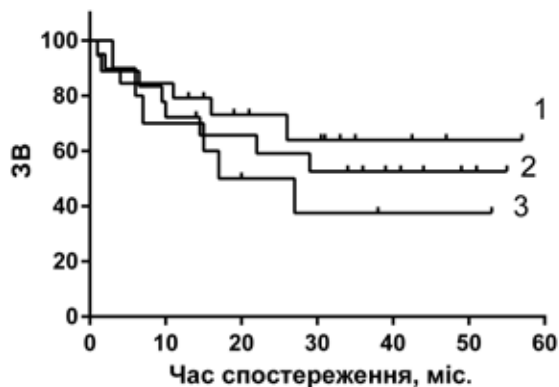


Рис. 8. Загальна виживаність хворих на РПК залежно від супероксид-генеруючої активності НАДФ-Н-оксидази тромбоцитів: 1 – швидкість генерування супероксидних радикалів $<2,35$ нМ/10⁵ клітин·хв; 2 – 2,5–3,0 нМ/10⁵ клітин·хв; 3 – $>3,20$ нМ/10⁵ клітин·хв. Оцінка за Капланом–Мейером, log-rank тест, $p=0,35$.

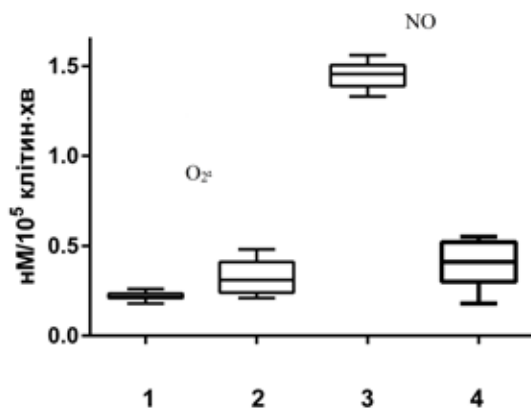


Рис. 9. Супероксид- та NO-генеруюча активність нейтрофілів у донорів (1, 3) та хворих на РПК (2, 4).

азоту iNOS нейтрофілів у хворих на РПК. У частини пацієнтів ($n=18$) активність генерування O₂⁻ нейтрофілами в середньому складала $(0,24 \pm 0,003)$ нМ/10⁵ клітин·хв та була близькою до рівня показника донорів ($0,23 \pm 0,004$) нМ/10⁵ клітин·хв). У іншій частині хворих ($n=42$) цей показник реєстрували в межах 0,25–0,48 нМ/10⁵ клітин·хв ($0,36 \pm 0,01$, $p < 0,05$).

Індуцибельна NO-синтаза, як і НАДФ-Н-оксидаза, забезпечує регуляторну та цитотоксичну активність нейтрофілів, генеруючи NO [14, 15]. При дослідженні активності iNOS у хворих на РПК виявлено нижчий рівень її активності ($0,39 \pm 0,017$) нМ/10⁵ клітин·хв порівняно з показником донорів ($1,45 \pm 0,02$) нМ/10⁵ клітин·хв), $p < 0,01$.

Було проаналізовано 5-річну ЗВ хворих залежно від рівня активності НАДФ-Н-оксидази. У хворих ($n=28$), які мали високу активність НАДФ-Н-оксидази ($>0,31$ нМ/10⁵ клітин·хв), 5-річна ЗВ становила 40 % з медіаною 39 міс., у пацієнтів ($n=32$) з низькою активністю ($<0,31$ нМ/10⁵ клітин·хв) ЗВ складала 78 %, медіани не досягнуто; $\chi^2=4,25$, $p=0,039$ (рис. 10).

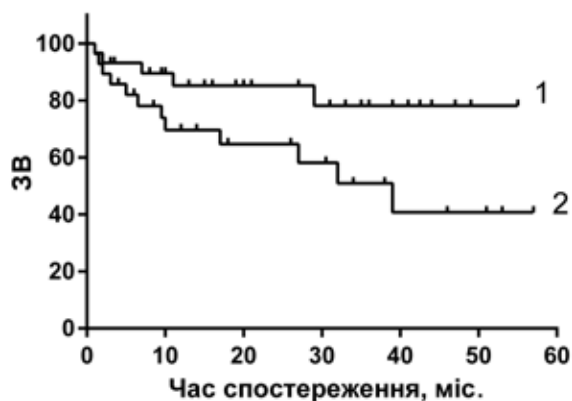


Рис. 10. Загальна виживаність хворих залежно від супероксид-генеруючої активності НАДФ·Н-оксидази: 1 – швидкість генерування супероксидних радикалів $<0,31 \text{ нМ}/10^5 \text{ клітин} \cdot \text{хв}$; 2 – $>0,31 \text{ нМ}/10^5 \text{ клітин} \cdot \text{хв}$. Оцінка за Капланом–Мейером, log-rank тест, $p=0,039$.

При аналізі 5-річної ЗВ хворих залежно від швидкості генерування NO нейтрофілами статистично достовірної різниці не виявлено, log-

rank тест, $\chi^2=2,32$, $p=0,13$. Супероксидні радикали та оксид азоту, генеровані нейтрофілами і тромбоцитами, беруть участь у формуванні редокс-стану крові, зумовленого ростом пухлини, сприяючи її прогресуванню.

ВИСНОВКИ. 1. У хворих на РПК (T2-4N0-2M0G2) розвиток аденокарциноми супроводжується зміною редокс-стану крові за рахунок зниження активності ЦП та вмісту ТФ, що призводить до появи “ВЗ” і зростання його рівня. Разом із тим, важливу роль у порушенні редокс-стану крові цих пацієнтів відіграють зміни супероксид-та NO-генеруючої активності НАДФ·Н-оксидази й iNOS нейтрофілів і тромбоцитів.

2. Стан редокс-формуємих складових крові хворих корелює із загальною 5-річною виживаністю. Встановлено достовірний вплив на ЗВ активності ЦП, вмісту “ВЗ” та супероксид-генеруючої активності НАДФ·Н-оксидази нейтрофілів і тромбоцитів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бурлака А. П. Радикальні форми кисню та оксиду азоту при пухлинному процесі / А. П. Бурлака, Є. П. Сидорик. – К. : Наукова думка, 2006. – 227 с.
2. Бурлака А. П. Редоксзависимые молекулы в механизмах опухолевого процесса / А. П. Бурлака, Е. П. Сидорик. – К. : Наукова думка, 2014. – 255 с.
3. Редокс-стан тромбоцитів у хворих на рак прямої кишки та його вплив на ефективність лікування / А. П. Бурлака, В. В. Голотюк, А. В. Вовк [та ін.] // Онкологія. – 2005. – № 17 (2). – С. 96–101.
4. iNOS expression and NO production by neutrophils in cancer patients / E. Jablonska, W. Pużewska, M. Marcińczyk [et al.] // Arch. Immunol. Ther. Exp. – 2005. – № 53. – P. 175–179.
5. Violi F. Platelet NOX, a novel target for anti-thrombotic treatment / F. Violi, P. Pignatelli // Thromb. Haemost. – 2014. – № 111. – P. 817–823.
6. Ковальчук Л. В. Иммунология. Практикум / Л. В. Ковальчук, Г. А. Игнатъева, Л. В. Ганковская. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 194 с.
7. Tocotrienols-induced inhibition of platelet thrombus formation and platelet aggregation in stenosed canine coronary arteries / A. Qureshi, Ch. Karpen, N. Qureshi [et al.] // Lipids in Health and Disease. – 2011. – № 10. – P. 58–71.
8. Effects of radical oxygen species and NO: formation of intracellular hypoxia and activation of matrix metalloproteinases in tumor tissues / A. P. Burlaka, E. P. Sidorik, I. I. Ganusevich [et al.] // Exp. Oncol. – 2006. – № 28. – P. 49–53.
9. Kaplan E. L. Nonparametric estimation from incomplete observations / E. L. Kaplan, P. Meier // J. Amer. Stat. Ass. – 1958. – № 53. – P. 457–481.
10. Вплив антикоагулянтів на показники окисного стресу та виживаність хворих на рак прямої кишки після радикального лікування / А. П. Бурлака, Є. П. Сидорик, І. І. Ганусевич [та ін.] // Укр. журн. гематології та трансфузіології. – 2008. – № 2. – С. 38–44.
11. Редокс-стан тромбоцитів у хворих на рак прямої кишки та його вплив на ефективність лікування / А. П. Бурлака, В. В. Голотюк, А. В. Вовк [та ін.] // Онкологія. – 2015. – № 16. – С. 206–210.
12. Presence of intratumoral platelets is associated with tumor vessel structure and metastasis / R. Li, M. Ren, N. Chen [et al.] // BMC Cancer. – 2014. – № 14. – P. 167–177.
13. Redox control of platelet functions in physiology and pathophysiology / D. Pietraforte, R. Vona, A. Marchesi [et al.] // Antioxidants & Redox Signaling. – 2014. – № 21. – P. 177–193.
14. Nitric oxide and cancer: a review / S. K. Choudhari, M. Chaudhary, S. Bagde [et al.] // World J. Surg. Oncol. – 2013. – № 11. – P. 118.
15. Montezano A. Reactive oxygen species and endothelial function – role of nitric oxide synthase uncoupling and nox family nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases / A. Montezano, R. Touyz // Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. – 2011. – № 110. – P. 87–94.

РЕДОКС-СОСТОЯНИЕ КРОВИ И ВЫЖИВАЕМОСТЬ БОЛЬНЫХ РАКОМ ПРЯМОЙ КИШКИ

Резюме

Клетки организма содержат определенную концентрацию электронов, которые характеризуют их стабильное окислительно-восстановительное (редокс) состояние. Электроны транспортируются на кислород и формируют потенциальную энергию для реализации клеточных функций – роста и апоптоза. Нарушение равновесия в редокс-состоянии клеток инициирует развитие и прогрессирование основных социально значимых патологий.

Целью работы было исследовать редокс-состояние крови больных раком прямой кишки (РПК) (уровни церулоплазмينا (ЦП), трансферрина (ТФ) и “свободного железа” (“СЖ”), супероксид- и NO-генерирующую активность нейтрофилов и тромбоцитов) и его влияние на общую выживаемость (ОВ).

Исследованы образцы венозной крови 60 больных РПК (T2-4N0-2M0G2) и 20 доноров. Уровни ЦП, ТФ, “СЖ” в крови определяли методом электронного парамагнитного резонанса при температуре жидкого азота (T=77 K).

Редокс-состояние крови больных РПК формируется: снижением вдвое активности ЦП по сравнению с контролем; уменьшением в 3 раза содержания ТФ и возрастанием в 10 раз уровня “СЖ”; незначительным повышением супероксид-генерирующей активности нейтрофилов и в 8–14 раз – тромбоцитов; снижением скорости генерирования NO в 3,7 и 4,3 раза нейтрофилами и тромбоцитами соответственно. Отмечено достоверное влияние на выживаемость пациентов с РПК активности ЦП ($p < 0,044$), уровня “СЖ” ($p < 0,026$), супероксид-генерирующей активности НАДФ·Н-оксидазы нейтрофилов ($p < 0,043$).

Установлено, что у больных РПК (T2-4N0-2M0G2) развитие аденокарциномы сопровождается изменением редокс-состояния крови за счет снижения активности ЦП и содержания ТФ, что приводит к появлению “СЖ” и возрастания его уровня. Вместе с тем, важную роль в нарушении редокс-состояния крови этих пациентов играют изменения супероксид- и NO-генерирующей активности НАДФ·Н-оксидазы и iNOS нейтрофилов и тромбоцитов. Состояние редокс-формирующих составляющих крови больных коррелирует с общей 5-летней выживаемостью. Отмечено достоверное влияние на ОВ активности ЦП, содержания “СЖ” и супероксид-генерирующей активности НАДФ·Н-оксидазы нейтрофилов и тромбоцитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рак прямой кишки, церулоплазмин, трансферрин, “свободное железо”, супероксид- и NO-генерирующая активность нейтрофилов и тромбоцитов.

A. P. Burlaka¹, V. V. Holotyuk², A. V. Vovk¹, S. M. Lukin¹, Ye. P. Sydoryk¹
R. YE. KAVETSKYI INSTITUTE OF EXPERIMENTAL PATHOLOGY, ONCOLOGY AND RADIOBIOLOGY,
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE¹, KYIV
IVANO-FRANKIVSK NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY²

BLOOD REDOX STATE AND SURVIVAL IN PATIENTS WITH RECTAL CANCER

Summary

The cells of an organism have a definite concentration of electrons that characterizes their stable redox status. Electrons are transported to the oxygen and create the potential energy to realize the cell functions such as growth and apoptosis. Imbalance in the redox state of cells initiates the development and progression of the most socially significant pathologies.

The aim of the research was to study the blood redox state in patients with rectal cancer (RC) (the levels of ceruloplasmin (CP), transferrin (TF) and “free iron” (“FI”), superoxyd-, NO-generating activity of neutrophils and platelets) and its impact on overall survival (OS).

Venous blood samples of 60 patients with RC (T2-4N0-2M0G2) and 20 donors were studied. The defining levels of CP, TF, “FI” in blood was performed by electron paramagnetic resonance (EPR) at the temperature of liquid nitrogen (T=77 K).

The blood redox state in patients with RC are formed by: 2 times reduced CP activity in comparison with the reference sample; 3 times reduced TF content and 10 times increased “FI” levels; slightly increased superoxide-

generating activity of neutrophils and 8–14 times increased superoxide generating activity of platelets; 3.7 and 4.3 times reduced NO generation rate of neutrophils and platelets, respectively. It was found that the survival in patients with RC was significantly influenced by the level of CP activity ($p<0.044$), levels of "FI" ($p<0.026$), superoxide generating activity of NADP·H-oxidase of neutrophils ($p<0.043$).

It was found that the adenocarcinoma progression in patients with RC (T2-4N0-2M0G2) was accompanied by change in the blood redox state by reducing CP activity and level of TF that led to the emergence of "FI" and the increase of its level. Besides, the changes of superoxyde- and NO-generating activity NADP·H-oxidase and iNOS of neutrophils and platelets significantly influenced the imbalance of the blood redox state in the patients. The state of redox forming blood components in patients correlated with the overall 5-year survival. It was found that the CP activity, the "FI" level and the superoxide-generating activity of NADP·H-oxidase of neutrophils and platelets had significant effect on OS.

KEY WORDS: rectal cancer, ceruloplasmin, transferrin, "free iron", superoxyde- and NO-generating activity of neutrophils and platelets.

Отримано 27.10.15

Адреса для листування: А. П. Бурлака, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, вул. Васильківська, 45, Київ, 03022, Україна, e-mail: apburlaka@gmail.com.