

## **ІНТЕНСИВНА ІНТРАОПЕРАЦІЙНА ТЕРАПІЯ ХВОРИХ НА РАК ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ: СТАН ОКИСНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ ПЛАЗМИ ЯК ІНДИКАТОР ЕФЕКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНОЇ ПРОТЕКЦІЇ**

<sup>1</sup>Харківський національний медичний університет МОЗ України

(м. Харків)

<sup>2</sup>ДУ «Інститут медичної радіології імені С. П. Григор'єва НАМН України» (м. Харків)

Дослідження виконано у межах науково-дослідних робіт «Інтенсивна терапія синдрому поліорганної дисфункції у хворих із сепсисом» (№ держ. реєстрації 0112U002383, 2012-2014 р.) кафедри медицини невідкладних станів, анестезіології та інтенсивної терапії (зав. каф. – проф. А. А. Хижняк) Харківського національного медичного університету МОЗ України (ректор – чл. -кор. НАМН України, проф. В. М. Лісовий) та НДР ДУ «Інститут медичної радіології імені С. П. Григор'єва НАМН України» (директор – проф. М. В. Красносельський).

**Вступ.** Ефективність лікування хворих на злоякісні новоутворення значною мірою залежить від біологічних особливостей неоплазій і стану захисних сил організму пухлиноносія [1]. Окисно-відновний метаболізм (ОВМ) при онкологічній патології досліджується достатньо активно, оскільки його порушення з одного боку, розглядаються у якості одного із механізмів формування та розвитку онкологічних захворювань, з іншого – проведення неoad'ювантної терапії та радикальних хірургічних втручань самі по собі можуть бути тригерними факторами. Досліджуючи метаболічні механізми при онкологічних захворюваннях з використанням новітніх біохімічних та імунологічних методів доведено, що окисна модифікація білків (ОМБ) та нуклеїнових кислот (НК) плазми крові може призводити до накопичення альдегідних (АП) та карбонільних (КП) продуктів, виявлення яких у спонтанних (С) та індукованих (І) реакціях може свідчити про ефективність інтенсивної терапії [14].

**Мета дослідження** полягала у вивченні особливостей окисно-відновного метаболізму, зокрема активності окисної модифікації та ступеня деструкції білків плазми крові у хворих на РГЗ з різними варіантами інтраопераційної інтенсивної терапії (ІІТ).

**Об'єкт і методи дослідження.** У дослідженні задіяно 126 хворих на РГЗ (віком  $44,6 \pm 3,5$  р.) з хірургічним втручанням у вигляді квадрантектомії грудної залози з лімфодісекцією, яких було стратифіковано за ознакою додаткового використання в системі ІІТ антиоксидантних засобів: група «А» ( $n_1=57$  осіб – контрольна) та група «Б» ( $n_2=69$  особи, яким виконано антиоксидантну протекцію). Антиоксидантні засоби: «Глутаргін» (40,0% внутрішньосудинно, 10,0 мл) та «Тіотриазолін» (2,5% внутрішньосудинно, 4,0 мл)

застосовано в системі ІІТ при анестезіологічному забезпеченні виконання радикальних хірургічних втручань при РГЗ на клінічній базі ДУ «Інститут медичної радіології імені С. П. Григор'єва НАМН України».

Формування репрезентативного об'єму вибіркової сукупності для вивчення стану ОВМ базувалося на клініко-статистичному обґрунтуванні кількісної достатності об'єктів спостереження в залежності від мінливості окремих вимірюваних показників. Розрахунок об'єму вибіркової сукупності (мінімально необхідна кількість об'єктів дослідження) виконано за спеціальною формулою [4, 11] визначення розміру об'єму вибіркової сукупності, що у відповідності з базовими теоретичними принципами медичної статистики [6, 12] гарантує репрезентативність висновків. Деонтологічні аспекти дослідження вирішено у межах існуючих Міжнародних конвенцій та законодавства України, принципів біоетики в медичних дослідженнях. Робота виконана відповідно до вимог Європейської конвенції (Страсбург, 18.03.1986 р.), директиви Ради Європейського економічного товариства (Страсбург, 21.11.1986 р.), Статуту Української асоціації з біоетики та нормами GLP (1992 р.), відповідно до вимог та нормам ІСН С8Р (2002 р.) і типового Положення з питань етики МОЗ України №281 від 01.11.2000 р. та розглянута і позитивно оцінена комісією з біоетики ХНМУ. При обстеженні хворих (у доопераційному, ранньому та відділеному післяопераційних періодах), окрім загальноклінічних методів, виконано систематизоване дослідження стану ОВМ на рівні трьох базових підсистем: ОМБ та НК, біоенергетики клітин, ферментативного ланцюга та ПОЛ мембран клітин і NO-залежних метаболітів. Дослідження закономірностей ОМБ та НК у хворих на РГЗ виконано на етапах ІІТ за показниками вмісту білкових компонентів у сироватці крові – 2,4 – динітрофенілгідрозонів (ДНФГ) та альдегідних і карбонільних продуктів ОМБ у спонтанних (С) та індукованих (І) залізом реакціях. Оцінка ОМБ базувалася на вивченні реакції окислених амінокислотних останків з 2,4-динітрофенілгідрозином і утворенні ДФНГ [7]. При цьому для оцінки ступеня окисної деструкції визначали (залежно від довжини хвилі спектрофотометра) дрібні ( $\lambda=254$  нм) ОМБ, виявлені в індукованих реакціях ( $I_d$ ), середні ( $\lambda=270$  нм) ОМБ, виявлені в індукованих реакціях ( $I_c$ ), крупні

Таблиця

**Індикатори активності окисної модифікації та ступеня окисної деструкції білків і нуклеїнових кислот на етапах інтенсивної терапії хворих на рак грудної залози**

Індикатори активності окисної модифікації та ступеня окисної деструкції білків та нуклеїнових кислот		Періоди оцінки ефективності інтенсивної терапії та анестезіологічного супроводу		
		доопераційний	післяопераційні	
			ранній	віддалений
C <sub>АП</sub> , у. о. /мг білка	n <sub>1</sub> = 57	82,44 ± 1,14	80,95 ± 1,57	76,83 ± 2,67 <sup>б</sup>
	n <sub>2</sub> = 69	82,18 ± 0,34	74,13 ± 0,96 <sup>а,б</sup>	68,07 ± 1,43 <sup>а,б</sup>
C <sub>КП</sub> , у. о. /мг білка	n <sub>1</sub> = 57	100,0 ± 1,26	94,69 ± 1,63 <sup>б</sup>	85,77 ± 3,44 <sup>б</sup>
	n <sub>2</sub> = 69	100,20 ± 0,68	85,51 ± 0,88 <sup>а,б</sup>	81,29 ± 2,52 <sup>б</sup>
C <sub>Д</sub> , у. о. /мг білка	n <sub>1</sub> = 57	1,904 ± 0,019	1,863 ± 0,013 <sup>б</sup>	1,760 ± 0,039 <sup>б</sup>
	n <sub>2</sub> = 69	1,875 ± 0,025	1,748 ± 0,020 <sup>а,б</sup>	1,710 ± 0,030
C <sub>С</sub> , у. о. /мг білка	n <sub>1</sub> = 57	0,235 ± 0,014	0,238 ± 0,005	0,249 ± 0,010
	n <sub>2</sub> = 69	0,231 ± 0,010	0,191 ± 0,009 <sup>а,б</sup>	0,201 ± 0,010 <sup>а</sup>
C <sub>К</sub> , у. о. /мг білка	n <sub>1</sub> = 57	0,115 ± 0,004	0,109 ± 0,002	0,099 ± 0,010
	n <sub>2</sub> = 69	0,112 ± 0,003	0,089 ± 0,001 <sup>а,б</sup>	0,092 ± 0,001
I <sub>АП</sub> , у. о. /мг білка	n <sub>1</sub> = 57	769,9 ± 19,90	764,0 ± 5,60	760,7 ± 13,12
	n <sub>2</sub> = 69	741,6 ± 21,54	687,0 ± 13,11 <sup>а,б</sup>	617,9 ± 14,47 <sup>а,б</sup>
I <sub>КП</sub> , у. о. /мг білка	n <sub>1</sub> = 57	705,2 ± 15,01	697,11 ± 6,71	704,7 ± 10,42
	n <sub>2</sub> = 69	681,2 ± 18,51	578,6 ± 10,86 <sup>а,б</sup>	585,1 ± 20,40 <sup>а</sup>
I <sub>Д</sub> , у. о. /мг білка	n <sub>1</sub> = 57	2,234 ± 0,016	2,188 ± 0,012 <sup>б</sup>	2,224 ± 0,015
	n <sub>2</sub> = 69	2,161 ± 0,054	1,927 ± 0,017 <sup>а,б</sup>	1,918 ± 0,031 <sup>а</sup>
I <sub>С</sub> , у. о. /мг білка	n <sub>1</sub> = 57	0,399 ± 0,011	0,365 ± 0,004 <sup>б</sup>	0,348 ± 0,008 <sup>б</sup>
	n <sub>2</sub> = 69	0,373 ± 0,024	0,309 ± 0,008 <sup>а,б</sup>	0,292 ± 0,016 <sup>а</sup>
I <sub>К</sub> , у. о. /мг білка	n <sub>1</sub> = 57	0,307 ± 0,011	0,294 ± 0,004	0,312 ± 0,005 <sup>б</sup>
	n <sub>2</sub> = 69	0,314 ± 0,004	0,251 ± 0,004 <sup>а</sup>	0,243 ± 0,007 <sup>а</sup>
НК, нмоль/л	n <sub>1</sub> = 57	0,570 ± 0,021	0,538 ± 0,005 <sup>б</sup>	0,541 ± 0,014
	n <sub>2</sub> = 69	0,540 ± 0,029	0,330 ± 0,020 <sup>а,б</sup>	0,262 ± 0,020 <sup>а,б</sup>

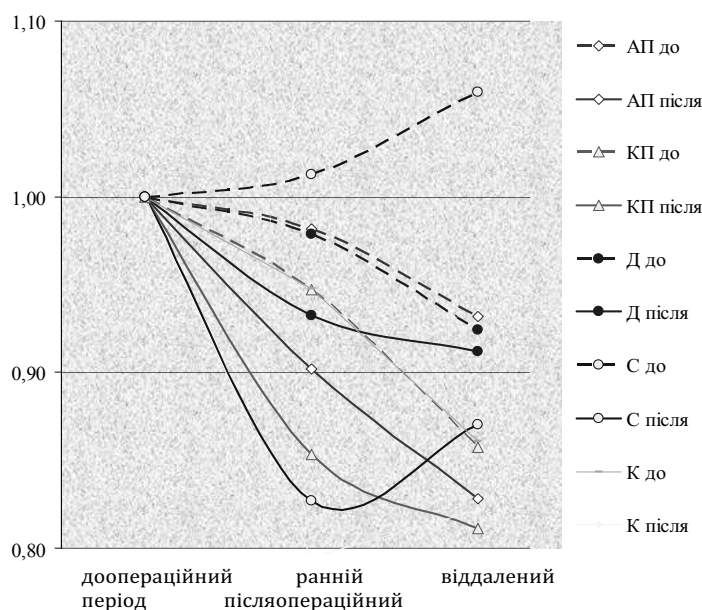
**Примітка:** ОМБ – окисна модифікація білків плазми крові; НК – нуклеїнові кислоти; <sub>АП</sub> – альдегідні продукти; <sub>КП</sub> – карбонільні продукти; I – в індукованих реакціях; C – в спонтанних реакціях; <sup>а</sup> – достовірні відмінності між групами порівняння у межах аналізованого періоду, при p < 0,05; <sup>б</sup> – достовірні відмінності змін показника у порівнянні з попереднім періодом, при p < 0,05.

(λ = 280 нм) ОМБ, виявлені в індукованих реакціях (I<sub>к</sub>) та аналогічні показники у спонтанних реакціях (C<sub>к</sub>, C<sub>с</sub>, C<sub>д</sub>). Для оцінки ступеня дефрагментації окислених білків використовували надопадову рідину, в якій спектрофотометрично виявляли пептиди при визначених довжинах хвиль [1, 3]. Індуковану ОМБ забезпечено шляхом використання середовища Фентона (0,1М фосфатний буфер, рН=7,4, який містить ммоль FeSO<sub>4</sub> та 40,3 ммоль H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) з подальшою спектрофотометрією надосадової рідини [5]. Ступінь ОМБ виражали в одиницях оптичної густини на мг білка. Рівень вмісту окисно модифікованих НК оцінювали за їх екскреторним індикатором – за вмістом 8-гідроксигуаніну у добовій сечі методом хроматографії на пластинках "Силуфол" [2, 13]; у якості хроматографічного стандарту застосовано 8-гідроксигуанін з перерахунком результату у нмоль/л. При виконанні дослідження застосовано відомі методи медичної статистики та клінічної інформатики: кількісний аналіз, математико-статистичні, зокрема: варіаційну статистику [10, 11], ймовірнісний розподіл клінічних та біохімічних і

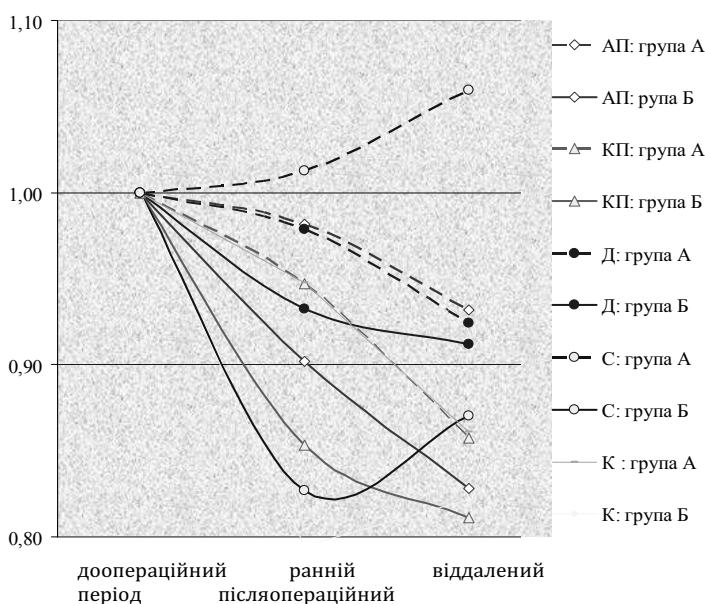
біофізичних ознак з оцінкою достовірності одержаних результатів [12].

**Результати досліджень та їх обговорення.** При дослідженні спонтанної ОМБ на до- та післяопераційних етапах з'ясовано, що вміст альдегідних продуктів спонтанної окисної модифікації білка (C<sub>АП</sub>) в порівнюваних групах пацієнтів на доопераційному етапі коливався у межах (78,0-83,0) у. о. /мг білка та достовірно не відрізнявся (відповідно 82,44 ± 1,14 у. о. /мг білка та 82,18 ± 0,34 у. о. /мг білка, p > 0,05). Однак, у вже у ранньому післяопераційному періоді, серед пацієнтів групи n<sub>2</sub> зареєстровано достовірне зменшення альдегідних продуктів ОМБ і в порівнянні з операційним періодом (відповідно 82,18 ± 0,34 у. о. /мг білка та 74,13 ± 0,96 у. о. /мг білка), і в порівнянні з пацієнтами, які не отримували удосконалену ІТ (відповідно 80,95 ± 1,57 у. о. /мг білка та 74,13 ± 0,96 у. о. /мг білка). У віддаленому післяопераційному періоді мало місце подальше достовірне зменшення рівня вмісту альдегідних продуктів ОМБ серед пацієнтів порівнюваних груп, однак більш виразним це зменшення зареєстровано серед пацієнтів з антиоксидантною інтраопераційною протекцією (табл.). Зазначимо, що рівень вмісту АП у індукованих реакція (I<sub>АП</sub>), на відміну від пацієнтів контрольної групи, серед пацієнтів з інтраопераційною антиоксидантною протекцією достовірно зменшувався (доопераційний період – 741,6 ± 21,54 у. о. /мг білка; ранній післяопераційний – 687,0 ± 13,11 у. о. /мг білка; віддалений – 617,9 ± 14,47 у. о. /мг білка).

При дослідженні спонтанної ОМБ на до- та післяопераційних етапах з'ясовано, що вміст карбонільних продуктів спонтанної окисної модифікації білка (C<sub>КП</sub>) в порівнюваних групах пацієнтів на доопераційному етапі коливався у межах (98,0-106,0) у. о. /мг білка та достовірно не відрізнявся (відповідно 100,0 ± 1,26 у. о. /мг білка та 100,20 ± 0,68 у. о. /мг білка, p > 0,05). У ранньому післяопераційному періоді, серед пацієнтів групи n<sub>2</sub> зареєстровано достовірне зменшення карбонільних продуктів ОМБ і в порівнянні з доопераційним періодом (відповідно 100,20 ± 0,68 у. о. /мг білка та 85,51 ± 0,88 у. о. /мг білка), і в порівнянні з пацієнтами, які не отримували удосконалену ІТ (відповідно 94,69 ± 1,63 у. о. /мг білка та 85,51 ± 0,88 у. о. /мг білка). У віддаленому післяопераційному періоді мало місце подальше достовірне зменшення рівня вмісту карбонільних продуктів ОМБ серед пацієнтів порівнюваних груп, однак більш виразним це зменшення



**Рис. 1.** Стандартизовані (рівень до лікування прийнято за 1,0) показники спонтанної окисної модифікації білків плазми крові та етапах контролю ефективності інтраопераційної інтенсивної терапії хворих на рак грудної залози.



**Рис. 2.** Стандартизовані (рівень до лікування прийнято за 1,0) показники індукованої окисної модифікації білків плазми крові та етапах контролю ефективності інтраопераційної інтенсивної терапії хворих на рак грудної залози.

zareєстровано серед пацієнтів з антиоксидантною інтраопераційною протекцією (табл.).

Зазначимо, що рівень вмісту КП у індукованих реакція ( $I_{KP}$ ), на відміну від пацієнтів контрольної групи, серед пацієнтів з інтраопераційною антиоксидантною протекцією достовірно зменшувався (доопераційний період –  $681,2 \pm 18,51$  у. о. /мг білка; ранній післяопераційний –  $578,6 \pm 10,8$  у. о. /мг білка; віддалений –  $585,1 \pm 20,40$  у. о. /мг білка).

Таким чином, ІІТ із застосуванням АЗ впливає на активність ОМБ, що проявляється насамперед сталим зменшенням

накопичення альдегідних та карбонільних продуктів. Тоді як, відсутність інтраопераційної антиоксидантної протекції тимчасово зменшує рівень вмісту АП у спонтанних реакціях, транзиторно зменшує рівень КП та не впливає на зменшення резервів ОМБ (рис. 1).

Аналіз ступеня деструкції білків виявив, що ІІТ з використанням АЗ у ранньому післяопераційному періоді достовірно зменшує кількість дрібних білкових фрагментів, як у спонтанних ( $C_D$ ) реакціях (відповідно  $1,875 \pm 0,025$  у. о. /мг білка до  $1,748 \pm 0,020$  у. о. /мг білка,  $p < 0,05$ ), так і при індукованих станах (відповідно з  $2,161 \pm 0,054$  у. о. /мг білка до  $1,927 \pm 0,017$  у. о. /мг білка,  $p < 0,05$ ).

Виконання ІІТ з використанням АЗ, у ранньому післяопераційному періоді також достовірно зменшує кількість крупних білкових фрагментів, як у спонтанних ( $C_K$ ) реакціях (відповідно з  $0,112 \pm 0,003$  у.о. мг білка до  $0,089 \pm 0,001$  у. о. /мг білка,  $p < 0,05$ ), так і при індукованих ( $I_K$ ) станах (відповідно з  $0,314 \pm 0,004$  у. о. /мг білка до  $0,251 \pm 0,004$  у. о. /мг білка,  $p < 0,05$ ); чого не зареєстровано серед пацієнтів контрольної групи (рис. 2).

Рівень вмісту 8-гідроксигуаніну, як індикатора окисно модифікованих нуклеїнових кислот на доопераційному етапі серед пацієнтів порівнюваних груп не відрізнявся (відповідно становив  $0,570 \pm 0,021$  нмоль/л та  $0,540 \pm 0,029$  нмоль/л,  $p > 0,05$ ) та під впливом ІІТ з застосуванням АЗ достовірно і стабільно зменшувався (в ранньому післяопераційному – до  $0,330 \pm 0,020$  нмоль/л; у віддаленому – до  $0,262 \pm 0,020$  нмоль/л). За відсутності АЗ в системі ІІТ зміни вмісту НК мали транзиторний характер та у віддаленому післяопераційному періоді не відрізнялись від доопераційного (відповідно  $0,570 \pm 0,021$  нмоль/л та  $0,541 \pm 0,014$  нмоль/л,  $p > 0,05$ ).

**Висновки.**

1. Ефективність застосування АЗ в системі ІІТ характеризується досягненням меншої активності окисної модифікації білків плазми крові у ранньому післяопераційному періоді та збереженням такого метаболічного стану і в віддаленому післяопераційному періоді.

2. Застосування ІІТ з використанням антиоксидантних засобів достовірно ( $p < 0,05$ ) зменшує активність утворення АП в результаті ОМБ плазми крові не тільки в спонтанних, але і в індукованих реакціях, що свідчить на користь зменшення метаболічних резервів для реалізації оксидативного стресу та детермінації патогенетичного механізму ОМБ.

3. Застосування ІІТ з використанням антиоксидантних засобів (АЗ) достовірно

( $p < 0,05$ ) зменшує активність утворення КП в результаті ОМБ плазми крові не тільки в спонтанних, але і в індукованих реакціях. При цьому, має місце відсутність достовірного зменшення  $I_{\text{кп}}$  в контрольній групі пацієнтів, а в групі пацієнтів з удосконаленою ІТ зменшення зареєстровано (транзиторне) лише у ранньому післяопераційному періоді.

4. Вплив ІТ з використанням АЗ зменшує ступінь окисної деструкції білків плазми крові та активність окисної модифікації нуклеїнових кислот.

**Перспективою подальших досліджень** з цієї проблематики є вивчення та узагальнений аналіз впливу ІТ з використанням АЗ на стан біоенергетики клітин, активність анаеробного гліколізу та окислення (у циклі Кребса) серед хворих на РГЗ.

### Література

1. Абакумова Ю. В. Физиологическое и патологическое свободнорадикальное окисление: сущность, методика распознавания, теоретическое и практическое значение. Врачевание и его методология / Ю. В. Абакумова. – Саратов 1996 – 33 с.
2. Ардаматский Н. А. Методика определения физиологического и патологического перекисного окисления / Н. А. Ардаматский, Ю. В. Абакумова, Е. Н. Корсунова // Экоген. – 1994 – №4 – С. 9.
3. Беленічев І. Ф. Продукти вільнорадикального перекисного окислення та методи їх ідентифікації / І. Ф. Беленічев, Є. Л. Левицький, С. І. Коваленко // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – №4. – С. 9–18.
4. Белобородов С. М. Планирование клинического исследования / С. М. Белобородов // Проблемы репродукции. – 2003. – Ч. I, №2. – С. 6-10.
5. Гунський Ю. І., Дунаев В. В., Беленічев І. Ф. та ін. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідях *in vitro*. Метод. реком. / Ю. І. Гунський, В. В. Дунаев, І. Ф. Беленічев [та ін.]. – Київ : ДФЦ, 2002. – 26 с.
6. Дубикайтис Т. А. Случайные и систематические ошибки в исследованиях / Т. А. Дубикайтис // Росс. семейн. врач. – 2003. – №2. – С. 32-37.
7. Дубинина Е. Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека. Методы ее определения / Е. Е. Дубинина, С. О. Бурмистров, Д. А. Ходов // Вопросы медицинской химии. – 1995. – Т. 42, №1. – С. 24-26.
8. Епідеміологічні методи вивчення неінфекційних захворювань (навчальний посібник) / В. М. Лехан, Ю. В. Вороненко, О. П. Максименко. – Д.: АРТ-ПРЕС, 2004. – 184 с.
9. Жмуров В. О. Обработка данных та аналіз результатів клінічних випробувань лікарських засобів / В. О. Жмуров, В. І. Мальцев, Т. К. Єфімцева // Український медичний часопис. – 2001. – №6. – С. 34-38.
10. Лищук В. А. Информатизация в клинической медицине / В. А. Лищук // Клиническая информатика и телемедицина. – 2004. – №1. – С. 7-13.
11. Соціальна медицина та організація охорони здоров'я / Заг. ред. Москаленко В. М., Вороненко Ю. В. / Підручник. – Тернопіль, 2002. – С. 50-75.
12. Цыбин А. К. Клиническая значимость диагностического исследования с позиций доказательной медицины / А. К. Цыбин, А. А. Доценко / Здравоохранение Беларуси. – 2002. – №8. – С. 52-55.
13. Sarsunova M. Chromatografia na tenrych vrstvach vo farmaciji a v klinicrej biochemii / M. Sarsunova, V. Schwarz, C. Michalec. – Pragma : Vydavatelstvo Osveta, 1980. – 621 p.
14. Shulga N. V. Intraoperative intensive therapy in correction of oxidative homeostasis system of the patient with breast cancer / N. V. Shulga // Науково-практична конференція з міжнародною участю «Значення морфологічних наук на сучасному етапі розвитку медицини» (26-27. 11. 2014 р.). – Тернопіль : Буковинський державний медичний університет, 2014. – С. 78-83.

УДК 618. 19-006. 55-08-039. 74:612. 015. 11

### **ІНТЕНСИВНА ІНТРАОПЕРАЦІЙНА ТЕРАПІЯ ХВОРИХ НА РАК ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ: СТАН ОКИСНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ ПЛАЗМИ ЯК ІНДИКАТОР ЕФЕКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНОЇ ПРОТЕКЦІЇ**

**Хижняк А. А., Красносельський М. В., Шульга М. В.**

**Резюме.** Аналіз ефективності удосконаленої інтраопераційної інтенсивної терапії виявив, що застосування АЗ в системі ІТ характеризується досягненням меншої активності окисної модифікації білків плазми крові у ранньому післяопераційному періоді та збереженням такого метаболічного стану і в віддаленому післяопераційному періоді та достовірно ( $p < 0,05$ ) зменшує активність утворення альдегідних та карбонільних продуктів окисної модифікації білків плазми крові не тільки в спонтанних, але і в індукованих реакціях, що свідчить на користь зменшення метаболічних резервів для реалізації окислювального стресу.

**Ключові слова:** інтраопераційна інтенсивна терапія, окислювальний гомеостаз, рак грудної залози.

УДК 618. 19-006. 55-08-039. 74:612. 015. 11

### **ИНТЕНСИВНАЯ ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЬНЫХ НА РАК ГРУДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ ИМОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ КАК ИНДИКАТОР ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ПРОТЕКЦИИ**

**Хижняк А. А., Красносельський М. В., Шульга М. В.**

**Резюме.** Анализ эффективности усовершенствованной интраоперационной интенсивной терапии (ИИТ) выявил, что применение антиоксиданта в системе ИИТ характеризуется достижением меньшей активности окислительной модификации белков плазмы крови в раннем послеоперационном периоде с дальнейшим сохранением такого метаболіческого состояния в отдаленном периоде и достоверно ( $p < 0,05$ ) угнетает активность образования альдегидных и карбонильных продуктов окислительной модификации не только в

спонтанных, но и в индуцированных реакциях, что обеспечивает уменьшение метаболических резервов для реализации окислительного стресса.

**Ключевые слова:** интраоперационная интенсивная терапия, окислительный гомеостаз, рак грудной железы.

UDC 618.19-006.55-08-039.74:612.015.11

### **Intraoperative Intensive Therapy for Patients with Breast Cancer: State of Oxidative Modification of Plasma Proteins as an Indicator of the Effectiveness of Antioxidant Protection**

**Khizhnyak A. A., Krasnoselskii N. V., Shulga N. V.**

**Abstract. Introduction.** The effectiveness of treatment of patients with malignant neoplasms depends on the biological characteristics of neoplasms and condition of protective forces of an organism. Redox metabolism (RM) at the oncopathology is investigated quite actively, because its violation on the one hand, regarded as one of the mechanisms of formation and development of cancer, and with the other hand neoadjuvant therapy and radical surgical interventions can be a trigger factors. Exploring the metabolic mechanisms of cancer using the latest biochemical and immunological methods it is proved that oxidative modification of proteins (OMP) and nucleic acids (NA) of plasma can lead to the accumulation of aldehyde (AP) and carbonyl (PC) products, which identification in spontaneous (S) and induced (I) reactions may reflect the effectiveness of intensive therapy.

*The aim of the research* was to study peculiarities of redox metabolism, in particular the activity of oxidative modification and the degree of degradation of proteins of blood plasma in patients with BC at various intraoperative intensive therapy (IIT).

*Materials and methods of the study.* The study involved 126 patients with BC (aged  $44,6 \pm 3,5$ ) with surgical intervention as breast quadrantectomy with lymphodissection, which was stratified on the basis of additional use in the system of IIT antioxidant agents: group "a" ( $n^1 = 57$  people – control) and group B ( $n^2 = 69$  individuals who were with antioxidant protection). Antioxidants: "Glutelin" (40,0% intravenously, 10.0 ml) and "Thiotriazoline" (2,5% intravenously, 4,0 ml) used in the system of IIT of the anesthetic measures of the radical surgical interventions for BC on the basis of clinic of the Institute of medical radiology named C. P. Grigoriev of NAMS of Ukraine. For examination of patients in pre-operative, early and remote postoperative periods), in addition to clinical methods, a systematic study of the state of RM is performed at the level of three basic subsystems: the OMP and NA, cells bioenergy, enzymatic chain and the POL of the cell membranes and NO-dependent metabolites Study of regularities of OMP and NA in patients with BC performed on the stages of IIT in terms of content of protein components in serum – 2,4-dintervention (DPG) and aldehyde and carbonyl OMP products in spontaneous (S) and induced (I) by iron reactions. Evaluation of OMP were based on a study of the reaction of the oxidized amino acid remains with 2,4-dintervention and formation of DFG. To assess the extent of oxidative degradation was determined (depending on the wavelength of the spectrophotometer) small ( $\lambda = 254$  nm) OMB identified in induced reactions (Is), medium ( $\lambda = 270$  nm) OMB identified in induced reactions (Ia), large ( $\lambda = 280$  nm) OMB identified in induced reactions (II) and similar rates of spontaneous reactions (Ss, Sa, SI).

*Research results and their discussion.* In the study of spontaneous OMP on pre – and postoperative stages revealed that the content of aldehydic products of spontaneous oxidative modification of protein ( $S_{AP}$ ) in the compared groups of patients at the preoperative stage ranged 78,0-83,0 SU/mg of protein and was not significantly different (according  $82,44 \pm 1,14$  SU/mg of protein and  $82,18 \pm 0,34$  SU/mg of protein,  $p > 0.05$ ). However, already in the early postoperative period in patients of group n2 registered a significant decrease in aldehyde OMP products compared to the operational period (respectively  $82,18 \pm 0,34$  SU/mg of protein and  $74,13 \pm 0,96$  SU/mg of protein) and also compared with patients who did not receive advanced IIT ( $80,95 \pm 1,57$  SU/mg of protein and  $74,13 \pm 0,96$  SU/mg of protein). In the late postoperative period was a further significant decrease in levels of aldehyde OMP products among the patients in the comparison groups, but more expressive this decrease is registered among patients with antioxidant intraoperative protection. It is noted that the levels of AP in induced reaction (IAP), in contrast to the patients in the control group among patients with intraoperative antioxidant protection was significantly reduced (pre-operative period  $741,6 \pm 21,54$  SU/mg of protein; early postoperative –  $687,0 \pm 13,11$  SU/mg of protein; remote –  $617,9 \pm 14,47$  SU/mg of protein).

In the study of spontaneous OMP on pre – and postoperative stages we revealed that the content of carbonyl products of spontaneous oxidative modification of protein ( $S_{CP}$ ) in the compared groups of patients at the preoperative stage ranged 98,0-to 106.0 SU/mg of protein and was not significantly different (respectively  $100,0 \pm 1,26$  SU/mg of protein and  $100,20 \pm 0,68$  SU/mg of protein,  $p > 0.05$ ). In the early postoperative period in patients of group n2 we registered a significant decrease in carbonyl OMP products compared with the preoperative period (respectively  $100,20 \pm 0,68$  SU/mg of protein and  $85,51 \pm 0,88$  SU/mg of protein) and also compared with patients who did not receive advanced IIT ( $94,69 \pm 1,63$  SU/mg of protein and  $85,51 \pm 0,88$  SU/mg of protein). In the late postoperative period was a further significant decrease in the levels of carbonyl OMP products among the patients in the comparison groups, but more expressive this decrease is registered among patients with antioxidant intraoperative protection.

We need to note that the levels of CP in induced reaction ( $I_{CP}$ ), in contrast to the patients in the control group among patients with intraoperative antioxidant protection was significantly reduced (preoperative period  $681,2 \pm 18,51$  SU/mg of protein; early postoperative –  $578,6 \pm 10,8$  SU/mg of protein; remote –  $585,1 \pm 20,40$  SU/mg of protein). Thus, IIT using the AO affects the activity of OMP, which is primarily manifested by a permanent decrease in the accumulation of aldehyde and carbonyl products. Whereas, the absence of intraoperative antioxidant protection temporarily reduces the levels of AP in spontaneous reactions, reduces the level of CP and does not affect the decrease in reserves of OMP.

Analysis of the degree of degradation of proteins found that IIT using the AO in the early postoperative period significantly reduces the number of small protein fragments, as in the spontaneous ( $S_p$ ) reactions (in accordance  $1,875 \pm 0,025$  SU/mg of protein to  $1,748 \pm 0,020$  SU/mg of protein,  $p < 0.05$ ) and at induced conditions ( $2,161 \pm 0,054$  SU/mg of protein to  $1,927 \pm 0,017$  SU/mg of protein,  $p < 0.05$ ).

IIT using the AO in the early postoperative period also significantly reduces the number of large protein fragments, as in the spontaneous ( $S_c$ ) reactions (in accordance with  $0,112 \pm 0,003$  SU/mg of protein to  $0,089 \pm 0,001$  SU/mg of protein,  $p < 0.05$ ) and at induced ( $I_c$ ) states ( $0,314 \pm 0,004$  SU/mg of protein to  $0,251 \pm 0,004$  SU/mg of protein,  $p < 0.05$ ); which is not registered among the patients in the control group. The levels of 8-medroxypro as indicator of oxidative modified nucleic acids on pre-operative stage among patients compared groups did not differ (respectively was  $0,570 \pm 0,021$  nmol/l and  $0,540 \pm 0,029$  nmol/l,  $p > 0.05$ ) and under the influence of IIT with the use of AO significantly and consistently decreased in the early postoperative – to  $0,330 \pm 0,020$  nmol/l; in the remote period – to  $0,262 \pm 0,020$  nmol/l). In the absence of the AO in the IIT system changes of levels of NA were transient and in the late postoperative period did not differ from pre-operative (in accordance  $0,570 \pm 0,021$  nmol/l and  $0,541 \pm 0,014$  nmol/l,  $p > 0.05$ ).

*Conclusions.* The effectiveness of the AO in the IIT system is characterized by the achievement of the lower activity of the oxidative modification of proteins of blood plasma in the early postoperative period and maintaining of this metabolic state in the late postoperative period.

Prospective IIT with the use of antioxidant agents significantly ( $p < 0.05$ ) reduces the activity of formation of AP in the OMP of blood plasma not only spontaneous, but in induced reactions, which gives evidence of the reduction of metabolic reserves for the implementation of oxidative stress and determination of pathogenetic mechanism of OMP.

Prospective IIT with the use of antioxidant agents significantly ( $p < 0.05$ ) reduces the activity of formation of CP in the OMP of blood plasma not only spontaneous, but in induced reactions. However, there is no significant reduction in  $I_{cp}$  in the control group of patients and in patients with advanced IIT  $I_{cp}$  decrease registered (transient) only in the early postoperative period.

The influence of IIT with AO reduces the degree of oxidative degradation of proteins of blood plasma and the activity of oxidative modification of nucleic acids.

Further research on this topic is the study and pooled analysis of the impact of IIT with AO on the status of bioenergy of cells, the activity of anaerobic glycolysis and oxidation (the Krebs cycle) among patients with BC.

**Keywords:** intraoperative intensive therapy, oxidative modification, breast cancer.

*Рецензент – д. мед. н. Шкурupій Д. А.*

*Стаття надійшла 9. 09. 2014 р.*