

А.П. Бурлака¹
 І.І. Ганусевич¹
 С.М. Лукін¹
 М.Р. Гафуров²
 Є.П. Сидорик¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ, Україна

²Казанський (Приволзький) федеральний університет, Казань, РФ

Ключові слова: супероксидний радикал, матриксні металопротеїнази, рак шлунка, метастазування, діагностика.

РЕДОКС-СТАТУС ТКАНИН РАКУ ШЛУНКА: ЗВ'ЯЗОК ІЗ ПРОГРЕСУВАННЯМ ПУХЛИНИ

Високі рівні швидкості генерування радикалів кисню незворотно змінюють життєдіяльність клітин, виступаючи основним месенджером — модулятором низки внутрішньоклітинних сигнальних каскадів, що призводять до прогресування раку. Відомо, що супероксидні радикали (СР) через вплив на внутрішньоклітинні сигнальні шляхи здійснюють регуляцію деструкції позаклітинного матриксу, зокрема — регуляцію активності желатиназ (матриксних металопротеїназ-2 і -9 (ММП-2 і -9)). **Мета:** вивчити взаємозалежність рівнів генерування СР, оксиду азоту NO, концентрації активних форм ММП-2 і -9 у пухлинній та прилеглої до неї тканині, зв'язок цих показників із клініко-патологічними параметрами хворих на рак шлунка (РШ) — стадією захворювання, категоріями N і M. **Методи:** ЕПР-спектrometerія (ЕПР — електронний парамагнітний резонанс) при температурі рідкого азоту, зимографія в поліакриламідному гелі. **Результати:** активність ММП-2 і -9 у тканині РШ корелює зі швидкістю генерування СР і рівнями оксиду азоту ($r = 0,48 \div 0,67$; $p < 0,05$). Крім того, всі вищевказані показники перебувають у прямій позитивній залежності від стадії захворювання ($r = 0,59 \div 0,71$; $p < 0,05$). Активності ММП-2 і -9 в пухлині, як і швидкість генерування СР і рівні NO, позитивно корелюють з регіонарним метастазуванням ($r = 0,45$ і $0,37$ відповідно; $p < 0,05$), але, на відміну від них, активність ММП-2 перебуває в зворотній залежності від рівня віддаленого метастазування РШ ($r = 0,58$; $p < 0,05$). Така сама тенденція характерна і для ММП-9. **Висновки:** клітини пухлини характеризуються перепрограмованим метаболізмом мітохондрій, високим рівнем клітинної гіпоксії, функціонуванням дефектної редокс-системи та нерегульованими рівнями молекул, які формують агресивний фенотип пухлини. Оцінка перебігу захворювання у пацієнтів із РШ шляхом визначення швидкості генерування СР, рівнів NO та активності ММП-2 і -9 дасть додаткову можливість контролювати ефективність протипухлинної терапії, коригувати схеми лікування та підвищити виживаність хворих.

ВСТУП

Спектр відповідей клітин на вплив супероксидних радикалів (СР) достатньо широкий і залежить від швидкості їх генерування, тривалості впливу, локалізації та характеру метаболітів, які можуть утворюватися [1]. Низький рівень СР викликає мітогенний ефект, ініціює клітинну проліферацію і підвищує виживаність клітин; проміжні рівні СР викликають короточасну або повну зупинку клітинного циклу та індукцію диференціювання клітин [2]. При високій швидкості генерування СР можуть легко вступати в реакцію з мембранними ліпідами, викликаючи зміну проникності мембран, окислювально-індуковану нестабільність функціонування геному (внаслідок його окисної модифікації) і окислювальну модифікацію білків, внаслідок чого змінюється чи втрачається каталітична активність ферментів або змінюється чутливість білків до протеолітичної деградації. У такому разі СР ініціюють апоптоз або некроз клітин [3, 4]. З іншого боку, коли рівень

генерування радикалів кисню такий, що незворотно змінюється життєдіяльність клітин, вони можуть виступати основним месенджером, модулюючи деякі внутрішньоклітинні сигнальні каскади, що призводять до прогресування раку.

Дійсно, було показано, що супероксидзалежна активація міогенактивованих протеїнкіназ (МАРК), фосфатидилінозитол-3-кінази (PI3K/Akt), фосфоліпази C-G1 (PLCg1), протеїнкінази C, ядерного транскрипційного фактора — каппа В (NF- κ B) і Jak/Stat призводить до прогресування раку [2–6]. Існують деякі дані про те, що СР через вплив на внутрішньоклітинні сигнальні шляхи здійснюють регуляцію деструкції позаклітинного матриксу, зокрема регуляцію активності протеолітичних ферментів [7, 8].

Серед протеаз, в активації яких задіяні СР, важлива роль у поширенні новоутворення належить матриксним металопротеїназам-2 і -9 (ММП-2 і -9), або желатиназам А і В відповідно [9–12], які є ферментами сімейства цинкзалежних ендопептидаз та синтезуються клітинами пухлини, її мікрооточен-

ня, ендотеліальними, імунокомпетентними клітинами та їх попередниками і здійснюють деградацію позаклітинного матриксу в процесі інвазії та метастазування [13, 14]. У сучасних дослідженнях пригнічення, стабілізацію чи посилення деструкції позаклітинного матриксу вважають критичною характеристикою злоякісної прогресії [13] та пов'язують рівні експресії та/або активності ММП із рівнем метастазування і загальною виживаністю хворих на рак [14], зокрема на рак шлунка (РШ) [15–18].

Сьогодні серед основних нозологічних форм злоякісних новоутворень РШ займає друге місце у світі. Показники 2011 р. свідчать, що в Україні РШ у структурі захворюваності на злоякісні новоутворення займає серед чоловіків четверте місце і сьоме — серед жінок, у структурі смертності від злоякісних новоутворень — друге і третє місце відповідно [19]. Відомо, що підвищити ефективність лікування і виживаність хворих можливо завдяки прогнозу перебігу онкологічного захворювання і відповідної своєчасної корекції схеми лікування. Наприклад, при РШ використовують низку прогностичних показників, серед яких найбільш поширеним є розповсюдження процесу, зокрема категорії N і M системи TNM [20]. Водночас дані щодо комплексного взаємозв'язку цих прогностичних показників з урахуванням рівнів генерування CP, оксиду азоту NO й активності ММП нечисленні та недостатньо підтвержені.

Мета роботи — вивчити взаємозалежність рівнів генерування CP, NO, концентрації активних форм ММП-2 і -9 у пухлинній та прилеглої до неї тканині, зв'язок цих показників із клініко-патологічними параметрами хворих на РШ — стадією захворювання, категоріями N і M.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліджені зразки пухлинної тканини і тканини, прилеглої до пухлини (відпрепарованої на відстані 1,5; 2,5 і 5,0 см від пухлини), 48 хворих на РШ (T1–4, N0–2, M0–1, G1–4), які перебували на лікуванні у Київському міському клінічному онкологічному центрі. Усі пацієнти були поінформовані, що зразки пухлини, видаленої під час операції, будуть використані з дослідницькою метою, і дали свою згоду. Середній вік хворих становив $58,0 \pm 10,5$ року. Серед них 33 чоловіки та 15 жінок; 8 пацієнтів — із I стадією, 12 — II, 17 — III і 11 — IV стадією захворювання. У 24 (50%) хворих виявлено метастази в лімфатичних вузлах, у 6 (12,5%) — віддалені метастази. Хворих розподілили за ступенем злоякісності пухлин таким чином: G1 — 4, G2 — 9, G3 — 22 і G4 — 13 пацієнтів. У всіх пацієнтів діагноз, стадію захворювання і наявність метастазів верифіковано відповідно до вимог доказової медицини (у ході відповідних клініко-інструментальних обстежень, морфологічно).

Зразки тканини для аналізу заморожували в спеціальній прес-формі в рідкому азоті при температурі 77 K, безпосередньо перед дослідженням зразки переносили до комп'ютеризованого радіоспектрометра PE-1307 та знімали спектр електронно-пара-

магнітного резонансу (ЕПР) при температурі рідкого азоту. Також в отриманих зразках визначали концентрацію активних та латентних форм ММП-2 і -9 методом зимографії в поліакриламідному гелі (з додаванням желатину як субстрату) на основі SDS-електрофорезу білків [21].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На рис. 1 наведено спектри ЕПР зразків тканини шлунка, відпрепарованої в різній віддаленості від пухлини. Чим ближче до пухлини, тим яскравіше виражений її вплив на здорові тканини. Клітини тканини шлунка на відстані 5,0 см від пухлини мають характерний для здорової тканини набір сигналів ЕПР. На відстані 2,5 см від пухлини інтенсивність сигналу ЕПР з $g = 1,94$, що характеризує активність FeS-білка N-2 у білковому НАД • Н-убіхінон-оксидоредуктазному електрон-транспортному комплексі дихального ланцюга мітохондрій знижується в 3,5 раза порівняно зі здоровою тканиною. Також підвищується рівень убісеміхінонів (сигнал ЕПР з $g = 2,00$) і значно (в 6,7 раза) зростає рівень комплексів NO з FeS-білками N-типу. Не реєструються сигнали ЕПР з $g = 2,42$ і з $g = 2,25$, що характеризують стан цитохрому P450 детоксуючої системи клітини (див. рис. 1, 2).

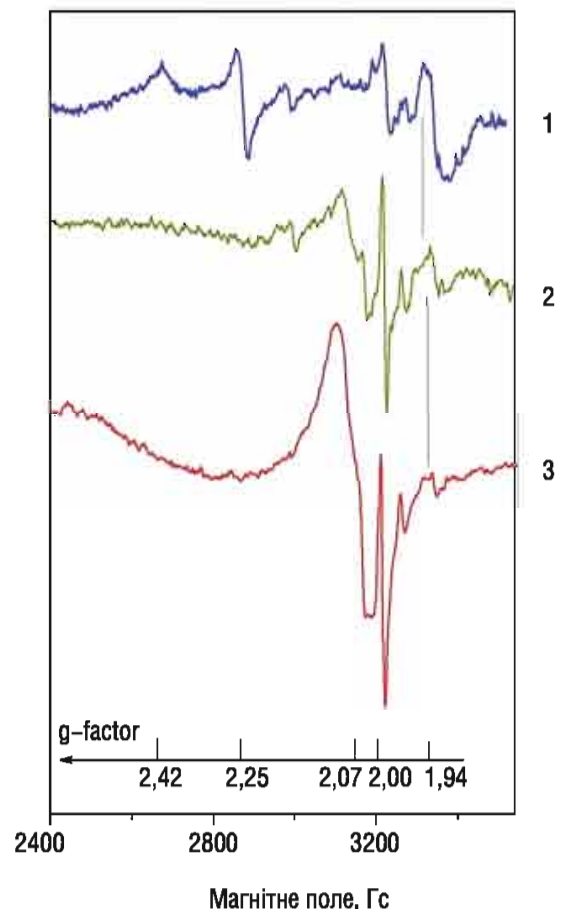


Рис. 1. Зміни функціонування електрон-транспортного ланцюга мітохондрій клітин тканини стінки шлунка, зразки якої взяті на різній відстані від пухлини. Спектри ЕПР: 1 — 5 см від пухлини; 2 — 2,5 см від пухлини; 3 — 1,5 см від пухлини

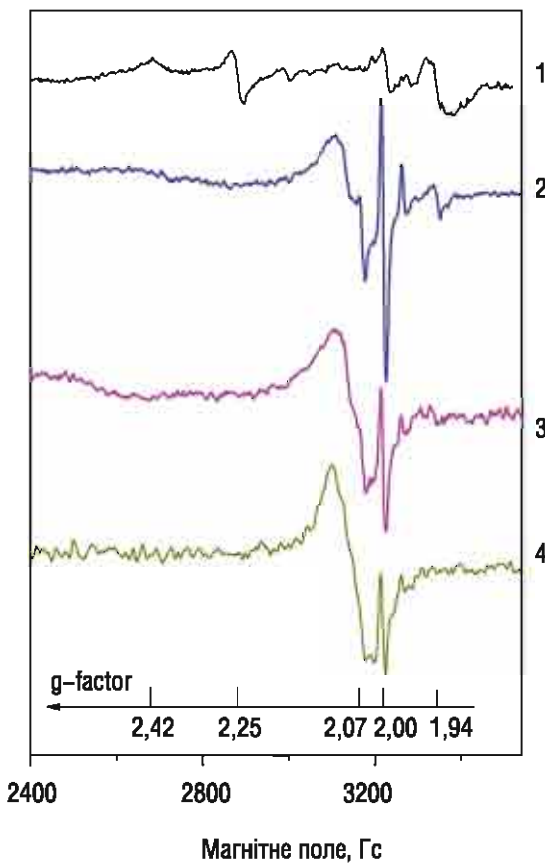


Рис. 2. Зміни функціонування електрон-тотранспортного ланцюга мітохондрій і детоксуючої системи клітин РШ залежно від стадії захворювання. Спектри ЕПР: 1 — тканини плунка (5,0 см від пухлини); 2 — РШ у I стадії; 3 — РШ у II стадії; 4 — РШ у III стадії

Прилегла тканина характеризується втратою мітохондріями клітин функціональної активності, пов'язаної зі сполученням окислення з фосфорилуванням. Спектр ЕПР клітин цієї тканини подібний до спектру ЕПР тканини РШ у I стадії захворювання (див. рис. 2). Швидкість генерування СР мітохондріями клітин у зразках тканин 2 і 3 залежить від віддаленості від пухлини і визначається в діапазоні від $1,90 \pm 0,23$ до $5,00 \pm 0,38$ нмоль/г сирої тканини \cdot хв (норма $0,25 \pm 0,18$ нмоль/г сирої тканини \cdot хв; $p < 0,05$). Рівень NO у цих тканинах також залежить від відстані від пухлини і перебуває в інтервалі від $2,00 \pm 0,15$ ($p > 0,05$) до $6,0 \pm 0,49$ ($p < 0,05$) нмоль/г сирої тканини при нормі $1,50 \pm 0,15$ нмоль/г сирої тканини.

На рис. 2 наведено спектри ЕПР тканини РШ на різних стадіях захворювання, що відповідають різним рівням інвазії та метастазування пухлини. При аналізі таких спектрів ЕПР нами встановлено, що у тканині пухлини відсутні сигнали ЕПР з $g = 2,25$ і $g = 2,42$, які характеризують активність цитохрому P450, що функціонує в каталітичному циклі системи детоксикації клітини. Виявлено залежне від стадії захворювання зниження інтенсивності сигналу $g = 1,94$, що визначає активність FeS-білка N-2 у білковому НАД \cdot Н-убіхінон-оксидоредуктазному елек-

трон-транспортному комплексі дихального ланцюга мітохондрій. Відображенням цих змін є підвищення інтенсивності сигналу ЕПР з $g = 2,03$, що супроводжує утворення комплексів NO з FeS-білками N-типу, які, збільшуючись у тканині РШ III стадії порівняно зі стадіями I і II, формують триплетний сигнал ЕПР з $g = 2,007$. На пізніших стадіях захворювання знижується інтенсивність сигналу ЕПР з $g = 1,94$, а також рівень сполучення дихання з фосфорилуванням, і зростає рівень гліколізу та клітинної гіпоксії. При цьому швидкість генерування СР мітохондріями клітин РШ підвищується з підвищенням стадії пухлинного прогресування в діапазоні від $0,65 \pm 0,19$ ($p > 0,05$) до $2,50 \pm 0,26$ ($p < 0,05$) нмоль/г сирої тканини \cdot хв (норма $0,25 \pm 0,18$ нмоль/г сирої тканини \cdot хв), а рівень NO зростає від $2,10 \pm 0,22$ ($p = 0,05$) нмоль/г сирої тканини в пухлинах хворих із I стадією до $3,5 \pm 0,31$ ($p < 0,05$) нмоль/г сирої тканини в пухлинах пацієнтів із IV стадією захворювання (норма $1,5 \pm 0,15$ нмоль/г сирої тканини).

Показано також (рис. 3), що для пухлин хворих із віддаленими метастазами (категорії N0–2M1–2) характерна швидкість генерування СР, яка в 1,3 раза ($p < 0,05$) перевищує цей показник у пухлинах хворих із метастазами в регіонарних лімфовузлах, але без віддаленого метастазування (категорії N1–2M0), і майже в 2 рази ($p < 0,05$) — пацієнтів без метастазів (категорії N0M0). Таку саму тенденцію відзначають для NO, рівні якого в тканині РШ із віддаленими метастазами і метастазами тільки в регіонарних лімфовузлах значно перевищують рівні в пухлинній тканині хворих без метастазів ($p < 0,05$). Встановлено, що швидкість генерування СР і рівні NO позитивно корелюють із регіонарним ($r = 0,63$ і $0,69$ відповідно; $p < 0,05$) і віддаленим метастазуванням ($r = 0,72$ і $0,43$ відповідно; $p < 0,05$) РШ.

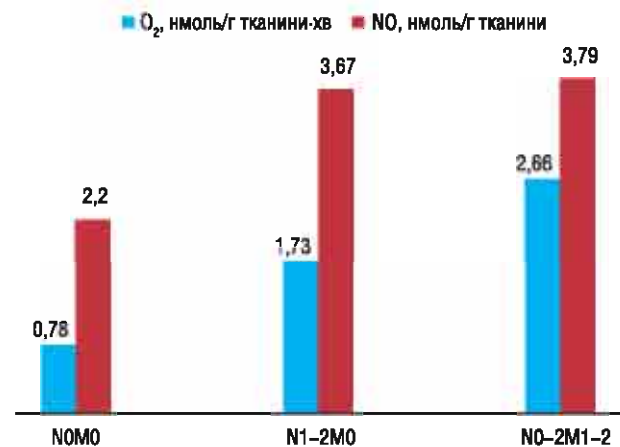


Рис. 3. Швидкість генерування СР (O₂) і рівні NO у зв'язку з метастазуванням РШ

Нами досліджено рівні активності ММП-2 і -9 у тканині РШ залежно від стадії захворювання та рівня метастазування, а також виявлено взаємозв'язок між цими показниками та швидкістю генерування СР і рівнів NO у пухлині.

Концентрація активних форм ММП-2 коливалася в проміжку $0,1 \div 52,8$ мкг/г тканини, середнє значення становило $8,2 \pm 4,9$ мкг/г тканини. Показники ММП-9 варіювали від $0,05$ до $28,8$ мкг/г тканини, середнє значення — $8,3 \pm 5,9$ мкг/г тканини. Активність обох желатиназ істотно та/або достовірно не відрізнялася залежно від статі, віку хворих і категорії Т, але в пухлинах зі ступенем диференціації G2 концентрація активної ММП-2 майже в 6 разів перевищувала цей показник у хворих на РШ зі ступенем диференціації G1 ($p < 0,05$).

Активність ММП-2 значно зростає з II стадії ($p < 0,05$), досягає максимальних значень при III стадії і зберігає високі рівні при IV стадії захворювання (рис. 4). Активність ММП-9 рівномірно підвищується з I до IV стадії в 1,7 раза, але різниця є недостовірною ($p > 0,05$).

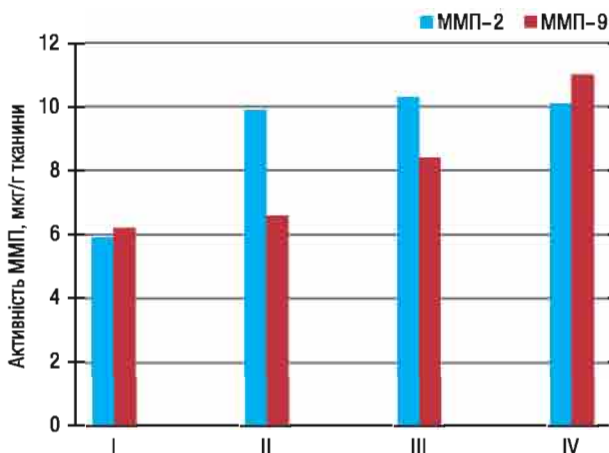


Рис. 4. Рівні активності ММП-2 в РШ залежно від стадії захворювання

У цілому показано, що активність ММП-2 і -9 у тканині РШ корелює зі швидкістю генерування СР і NO ($r = 0,48 \div 0,67$; $p < 0,05$). Крім того, усі вищевказані показники перебувають у прямій позитивній залежності від стадії захворювання ($r = 0,59 \div 0,71$; $p < 0,05$).

Проаналізовано зв'язок між активністю желатиназ у РШ і рівнем його метастазування. Незважаючи на те що концентрації активних форм ММП-2, -9 в пухлині при категорії N1–2 трохи вища, ніж при категорії N0, достовірної різниці між ними не виявлено ($p > 0,05$) (рис. 5). При цьому концентрація активної форми ММП-2 перебуває в зворотній залежності від категорії М, тобто у хворих без віддалених метастазів активність ММП-2 майже в 2 рази перевищує цей показник у хворих із метастазами ($p < 0,05$). Максимальна активація латентних форм ММП-2 у пухлинах при M0 свідчить про значне посилення деструкції позаклітинного матриксу на тому етапі розвитку пухлини, коли віддалені метастази клінічно не встановлені, тобто, ймовірно, відбувається їх формування та/або дисемінація пухлинних клітин. Отримані результати співвідносяться з даними про здатність пухлини через відповідні сигнальні шляхи заздалегідь (попередньо) створювати сприятливе мікрооточення у так званих передметастатичних нішах [22, 23].

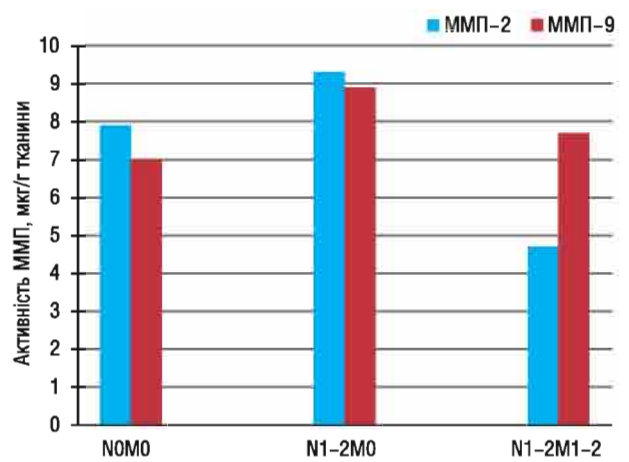


Рис. 5. Рівні активності ММП залежно від розповсюдженості РШ (критерії N, M)

Таким чином, активність ММП-2 і -9 у пухлині, як і швидкість генерування СР і рівні NO, позитивно корелює з регіонарним метастазуванням ($r = 0,45$ і $0,37$ відповідно; $p < 0,05$). На відміну від них (див. рис. 3), активність ММП-2 перебуває в зворотній залежності від рівня віддаленого метастазування РШ ($r = -0,58$; $p < 0,05$), така сама тенденція характерна і для ММП-9. Тобто за наявності віддалених метастазів для пухлини притаманні високі швидкості генерування СР і рівні оксиду азоту, але низька активність ММП-2 і -9. «Down-regulation» ММП пояснюється тим, що при надвисоких швидкостях генерування СР і посиленні окисних процесів, які можуть спостерігатися на термінальній стадії пухлинного процесу при вторинному метастазуванні, відбувається дезінтеграція сигнальних шляхів і регуляторних зв'язків на рівні геному і постсинтетичному етапі формування активності ММП.

Результати наших досліджень демонструють, що пухлинні клітини характеризуються перепрограмованим метаболізмом мітохондрій, високим рівнем клітинної гіпоксії, функціонуванням дефектної редокс-системи та нерегульованими рівнями молекул, що формують агресивний фенотип пухлини, який проявляється нерегульованою проліферацією, міграцією і вторгненням пухлинних клітин, корелює з перебігом захворювання і може бути використаний як допоміжний об'єктивний критерій у діагностиці. Таким чином, оцінка перебігу захворювання у пацієнтів із РШ шляхом визначення показників редокс-статусу пухлинної тканини (серед них швидкості генерування СР, рівнів NO та активності ММП-2 і -9) дасть додаткову можливість контролювати ефективність протипухлинної терапії, коригувати схеми лікування та підвищувати виживаність хворих.

ВИСНОВКИ

1. Активність ММП-2 і -9 у тканині РШ корелює зі швидкістю генерування СР і рівнями NO ($r = 0,48 \div 0,67$; $p < 0,05$). Крім того, всі вищевказані показники перебувають у прямій позитивній залежності від стадії захворювання ($r = 0,59 \div 0,71$; $p < 0,05$).

2. Активність ММП-2 і -9 у пухлині, як і швидкість генерування СР і рівні NO, позитивно корелює з регіонарним метастазуванням ($r = 0,45$ і $0,37$ відповідно; $p < 0,05$); на відміну від них, активність ММП-2 перебуває в зворотній залежності від рівня віддаленого метастазування РШ ($r = -0,58$; $p < 0,05$). Така сама тенденція характерна і для ММП-9.

3. Пухлинні клітини характеризуються перепрограмованим метаболізмом мітохондрій, високим рівнем клітинної гіпоксії, функціонуванням дефектної редокс-системи та нерегульованими рівнями молекул, що формують агресивний фенотип пухлини, який проявляється нерегульованою проліферацією, міграцією і вторгненням пухлинних клітин, корелює з перебігом захворювання і може бути використаний як допоміжний об'єктивний критерій у діагностиці.

4. Оцінка перебігу захворювання у пацієнтів із РШ шляхом визначення показників редокс-статусу пухлинної тканини (серед них швидкості генерування СР, рівнів NO та активності ММП-2 і -9) дасть додаткову можливість контролювати ефективність протипухлинної терапії, коригувати схеми лікування та підвищувати виживаність хворих.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бурлака АП, Сидорик ЄП. Радикальні форми кисню та оксиду азоту при пухлинному процесі. Київ: Наукова думка, 2006. 228 с.
2. Gauron C, Rampon C, Bouzaffour M, et al. Sustained production of ROS triggers compensatory proliferation and is required for regeneration to proceed. *Scientific Reports* 2013; **2084**: 123–33.
3. Weinberg F, Hamanaka R, Wheaton WW, et al. Mitochondrial metabolism and ROS generation are essential for Kras-mediated tumorigenicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; **107**: 8788–93.
4. Shimokawa H. Reactive oxygen species promote vascular smooth muscle cell proliferation. *Circulation Res* 2013; **113**: 1040–2.
5. Circu ML. Reactive oxygen species, cellular redox systems and apoptosis. *Free Radic Biol Med* 2010; **48** (6): 749–62.
6. Zhou Y, Yan H, Guo M, et al. Reactive oxygen species in vascular formation and development. *Oxidative Med Cell Longevity* 2013; **2013**: 2013–4.
7. Бурлака АП, Ганусевич ІІ, Лук'яничук ЄА та ін. Мітохондріальний редокс-контроль матриксних металопроїназ та метастазування у хворих на рак молочної залози. *Онкологія* 2010; **12** (4): 377–82.
8. Burlaka AP, Ganusevich II, Gafurov MR, et al. Electron paramagnetic resonance study of tumor affected bone marrow. *Cancer Microenviron* 2013; **6**: 273–6.
9. Dalton SJ, Whiting CV, Bailey JR, et al. Mechanisms of chronic skin ulceration linking lactate, transforming growth factor-beta, vascular endothelial growth factor, collagen remodeling, collagen stability, and defective angiogenesis. *J Invest Dermatol* 2007; **34**: 1988–92.
10. McCormick ML, Gavrilu D, Weintraub NL. Role of oxidative stress in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; **28** (4): 1432–8.
11. Ho FM, Liu SH, Lin WW, et al. Opposite effects of high glucose on MMP-2 and TIMP-2 in human endothelial cells. *J Cell Biochem* 2007; **86**: 1628–30.
12. Burlaka AP, Sidorik EP, Ganusevich II, Osinsky SP. Effects of radical oxygen species and NO: formation of intracellular hypoxia and activation of matrix metalloproteinases in tumor tissues. *Exp oncol* 2006; **28** (1): 49–53.

13. Fingleton B. Matrix metalloproteinases: role in cancer and metastasis. *Front Biosci* 2006; **11**: 479–91.

14. Ганусевич ІІ. Роль матриксних металопроїназ (ММП) при злоякісних новообразованиях. Характеристика ММП, регуляція їх активності, прогностическе значення. *Онкологія* 2010; **12** (1): 10–6.

15. Kubben F, Sier C, Duijn W, et al. Matrix metalloproteinase-2 is a consistent prognostic factor in gastric cancer. *Br J Cancer* 2006; **94**: 1035–40.

16. Peña S. Matrix metalloproteinases as molecular markers in gastric cancer. *Med Clin* 2010; **134** (3): 123–6.

17. Wu CY, Wu MS, Chiang EP, et al. Plasma matrix metalloproteinase-9 level is better than serum matrix metalloproteinase-9 level to predict gastric cancer evolution. *Clin Cancer Res* 2007; **13**: 2054–60.

18. Chu D, Zhang Z, Li Y, et al. Matrix metalloproteinase-9 is associated with disease-free survival and overall survival in patients with gastric cancer. *Int J Cancer* 2011; **129**: 887–95.

19. Рак в Україні 2011–2012. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. *Бюл Нац канцер-реєстру України*, 2013; **14**: 28–9.

20. Macdonald JS, Cervantes A. New horizons for gastric cancer: commentary. *Eur J Cancer Suppl* 2006; **4** (10): 1–2.

21. DeClerk YA, Perez N, Shimada H, et al. Inhibition of invasion and metastasis in cells transfected with an inhibitor of metalloproteinases. *Cancer Res* 1992; **52**: 701–8.

22. Muller MM, Fusenig NE. Friends or foes — bipolar effects of the tumour stroma in cancer. *Nature Rev* 2004; **4**: 839–49.

23. Coussens LM, Tinkle CL, Hanahan D, et al. MMP-9 supplied by bone marrow-derived cells contributes to skin carcinogenesis. *Cell* 2000; **103**: 481–90.

THE REDOX STATUS OF THE TISSUES OF GASTRIC CANCER: RELATIONSHIP WITH TUMOR PROGRESSION

A.P. Burlaka, I.I. Ganusevich, S.M. Lukin, M.R. Gafurov, E.P. Sidorik

Summary. High levels of speed of generation of oxygen radicals irreversibly alter the activity of the cells, acting as the main messenger modulator series of intracellular signaling pathways that lead to progression of cancer. It is known that superoxide radicals (SR) through influence on intracellular signaling pathways are regulated degradation of the extracellular matrix, in particular regulation of activity gelatinase (matrix metalloproteinases-2 and -9 (MMP-2 and -9)). **Objective:** to study the interdependence levels generation SR, NO, concentration of active forms of MMP-2 and -9 in the tumor and surrounding tissue, the data link indices with clinicopathological parameters of patients with gastric cancer — stage disease, categories N and M. **Methods:** EPR spectrometry at the temperature of liquid nitrogen, zymographia in polyacrylamide gel. **Results:** indicators of activity of MMP-2 and MMP-9 in GC tissues correlate with the rate of generation SR and levels of nitric oxide ($r = 0.48$ to 0.67 ; $p < 0.05$). In addition, all the indicators mentioned above are in direct positive depending on the stage of the disease ($r = 0.59$ is up to 0.71 , $p < 0.05$). Activity of MMP-2 and -9 in the tumor, as well as the speed of generating SR and NO, positively correlated with regional metastases ($r = 0.45$ and 0.37 , respectively; $p < 0.05$), but, unlike them, the activity of MMP-2 is inversely dependent on the level of distant metastasis CS ($r = 0,58$; $p < 0.05$), the same ten-

gency is typical for MMP-9. Conclusions: the tumor cells are characterized by preprogramming metabolism of mitochondria, the high level of cell hypoxia, the defective functioning of redox-systems and unregulated levels of molecules that form the aggressive tumor phenotype. Assessment of the disease in patients with GC by determining the speed of generating SR, levels of NO and activity of MMP-2 and -9, will give an additional opportunity to monitor the effectiveness of cancer therapy, correct treatment regimen and improve the survival rates of patients.

Key Words: superoxide radical, matrix metalloproteinases, gastric cancer, metastasis, diagnostics.

Адреса для листування:

Бурлака А.П.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

E-mail: apburlaka@gmail.com

Одержано: 3.06.2014