

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
институт  
Медицинской биологии  
кафедра

УТВЕРЖДАЮ  
Руководитель магистерской  
программы  
\_\_\_\_\_ Е.И. Шишацкая  
подпись                      инициалы, фамилия  
« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ г.

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ**

Особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных  
гранулоцитов у больных раком прямой кишки  
тема

06.04.01.05 Реконструктивная биоинженерия  
код и наименование магистерской программы

Научный руководитель \_\_\_\_\_ профессор, д.м.н. О.В.Смирнова  
подпись, дата должность, ученая степень инициалы, фамилия

Выпускник \_\_\_\_\_ К.С. Волчкова  
подпись, дата инициалы, фамилия

Рецензент \_\_\_\_\_ с.н.с., к.б.н. О.Л. Москаленко  
подпись, дата должность, ученая степень инициалы, фамилия

Красноярск 2018

## АННОТАЦИЯ

Цель: изучить особенности неспецифического - фагоцитарного звена иммунитета у больных раком прямой кишки.

Задачи:

1. Определить спонтанную хемилюминесцентную активность нейтрофильных гранулоцитов у больных раком прямой кишки до и после оперативного лечения в зависимости от стадии в сравнении с практически здоровыми людьми.

2. Определить индуцированную хемилюминесцентную активность нейтрофильных гранулоцитов у больных раком прямой кишки до и после оперативного лечения в зависимости от стадии в сравнении с практически здоровыми людьми.

У больных РПК выявлены статистически значимые изменения показателей спонтанной и индуцированной ХЛ.

Ключевые слова: рак прямой кишки, нейтрофильные гранулоциты, хемилюминесцентная активность, спонтанная и индуцированная хемилюминесценция, стадии рака прямой кишки, интенсивность максимальная, площадь под кривой, индекс активации.

## АВТОРЕФЕРАТ

Магистерская диссертация по теме «Особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных раком прямой кишки» содержит страниц текстового документа, иллюстраций, использованных источника.

**РАК ПРЯМОЙ КИШКИ, НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ГРАНУЛОЦИТЫ, ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ АКТИВНОСТЬ.**

Цель диссертационной работы: изучение особенностей неспецифического - фагоцитарного звена иммунитета у больных раком прямой кишки.

Задачи исследования:

1. Определить спонтанную хемилюминесцентную активность нейтрофильных гранулоцитов у больных раком прямой кишки до и после оперативного лечения в зависимости от стадии в сравнении с практически здоровыми людьми.
2. Определить индуцированную хемилюминесцентную активность нейтрофильных гранулоцитов у больных раком прямой кишки до и после оперативного лечения в зависимости от стадии в сравнении с практически здоровыми людьми.

Актуальность диссертационной работы в том, рак прямой кишки это злокачественное новообразование, образующееся из клеток слизистой ткани прямой кишки. В настоящее время рак прямой кишки имеет тенденцию к омоложению. Данный вид рака занимает одну из лидирующих позиций.

## ABSTRACT

Master's thesis on the topic "Features of chemiluminescent activity of neutrophilic granulocytes in patients with rectal cancer" contains pages of a text document, illustrations, a used source.

DRUG           CANCER,           NEUTROPHILIC           GRANULOCYTES,  
CHEMILUMINESCENT ACTIVITY.

The purpose of the thesis: the study of the characteristics of nonspecific - phagocytic link of immunity in patients with rectal cancer.

Objectives of the study:

1. To determine the spontaneous chemiluminescent activity of neutrophilic granulocytes in patients with rectal cancer before and after surgical treatment, depending on the stage in comparison with practically healthy people.
2. To determine the induced chemiluminescent activity of neutrophilic granulocytes in patients with rectal cancer before and after surgical treatment, depending on the stage in comparison with practically healthy people.

The topicality of the dissertation work is that cancer of the rectum is a malignant neoplasm formed from cells of the rectal mucosa. At the present time, rectal cancer has a tendency to rejuvenate. This type of cancer occupies one of the leading positions.

## Оглавление

Введение.....	6
Обзор литературы.....	7
1.1 Определение и этиология рака прямой кишки .....	7
1.2 Патогенез рака прямой кишки.....	8
1.3 Классификация рака прямой кишки .....	9
1.4 Клинические проявления рака прямой кишки.....	12
1.5 Диагностика рака прямой кишки .....	13
1.6 Лечение больных раком прямой кишки .....	15
1.7 Роль нейтрофильных гранулоцитов в прогрессировании злокачественных опухолевых заболеваниях .....	16
1.8 Особенности хемилюминесцентного анализа, оценивающего активность нейтрофильных гранулоцитов.....	17
Материалы и методы .....	22
2.1 Материалы исследования.....	22
2.2 Хемилюминесцентный анализ.....	22
2.3 Статистический метод .....	25
Результаты и обсуждения.....	26
Заключение .....	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>
Список литературы .....	27

## Введение

Рак прямой кишки – злокачественная опухоль, которая развивается чаще из клеток слизистой ткани, выстилающей прямую кишку, реже из клеток мышц, сосудов, переходного эпителия анального канала, анальных желез, перианальной кожи.[1]

Рак толстой кишки занимает четвертое место в мире в структуре онкологической заболеваемости. Ежегодно в мире регистрируют более 800000 новых случаев рака толстой кишки. Рак прямой кишки занимает второе место после рака легкого у мужчин и рака молочной железы у женщин.[2, 3]

Прогрессирование любого заболевания зависит от состояния клеток иммунной системы и их функций. Одну из центральных ролей в иммунном ответе играют лейкоциты. За неспецифическое звено иммунитета отвечают нейтрофильные гранулоциты. Нейтрофильный ответ - самый первый ответ на бактериальные и многие другие инфекции. При острых воспалениях и инфекциях он всегда предшествует более специфическому лимфоцитарному ответу. [4]

В связи с этим целью данной работы явилось изучение особенностей неспецифического - фагоцитарного звена иммунитета у больных раком прямой кишки.

На основании поставленной цели были определены следующие задачи:

3. Определить спонтанную хемилюминесцентную активность нейтрофильных гранулоцитов у больных раком прямой кишки до и после оперативного лечения в зависимости от стадий в сравнении с практически здоровыми людьми.

4. Определить индуцированную хемилюминесцентную активность нейтрофильных гранулоцитов у больных раком прямой кишки до и после оперативного лечения в зависимости от стадии в сравнении с практически здоровыми людьми.

## Обзор литературы

### 1.1 Определение и этиология рака прямой кишки

Рак прямой кишки – злокачественная опухоль, источником которой служат клетки, выстилающие прямую кишку. Опухоль может прорасти в стенку кишки или выступать в ее просвет. Как правило, опухоль образуется из одной клетки. Под действием различных факторов клетка меняет генетическую информацию и выходит из-под контроля организма. Патологический процесс опухолевой трансформации клеток приводит к новым фенотипическим особенностям: [5,31]

1. «автономность роста и нечувствительность к антиростовым сигналам;
2. неограниченный пролиферативный потенциал;
3. способность к инвазивному росту и метастазированию;
4. способность стимулировать ангиогенез;
5. нестабильность генома;
6. уменьшение гибели в результате апоптоза и способность избегать иммунную атаку;
7. метаболическое перепрограммирование.» [6]

Данные свойства способствуют в образовании атипичных клеток с нерегулируемой пролиферацией, что в свою очередь приводит к разрастанию опухоли и появлению новых очагов заболевания. [7,32 **Ошибка! Закладка не определена.**]

Большинство злокачественных новообразований прямой кишки развивается на фоне аденоматозных полипов или аденомы. Полипы гистологически классифицируются как тубулярные (малигнизация в 5 %), ворсинчатые (малигнизация в 40 %) или смешанные (малигнизация в 20 %). Степень дисплазии кишечного эпителия также играет важную роль в этиологии рака прямой кишки и колеблется от 5 % малигнизации (при низкой степени) до 35 % (при высокой степени). Риск малигнизации доброкачественных новообразований коррелирует и с размером аденом: 90 %

имеют размеры менее 1 см (1 % риска), 10 % – более 1 см (10 % риска). К важным факторам развития рака прямой кишки также относят: возраст пациентов (старше 50 лет); факторы питания (высококалорийная пища с избытком животных жиров и белков, недостаток растительной клетчатки, пищевые канцерогены); ожирение; малоподвижный образ жизни; курение.[1,7]

Таким образом, причиной рака прямой кишки может стать любой фактор, который долгое время действует на организм и приводит к патологическим изменениям.

## 1.2 Патогенез рака прямой кишки

Патогенез опухолевых преобразований происходит в ходе многоступенчатого, гетерогенного процесса, характеризующегося генетическими изменениями. Генные, геномные и хромосомные мутации ведут к нарушениям клеточного цикла, дифференциации клеток, посредством изменений важнейших сигнальных путей клетки, изменения ответной реакции клетки на воздействие факторов окружающей среды и др. В большинстве случаев мутации происходят под влиянием факторов внешней среды, таких как: [8]

- «физические канцерогены, это ультрафиолетовое и ионизирующее излучение;
- химические канцерогены - асбест, компоненты табачного дыма, афлатоксины (загрязнители пищевых продуктов) и мышьяк (загрязнитель питьевой воды);
- биологические канцерогены, такие как инфекции, вызываемые некоторыми вирусами, бактериями или паразитами. » [9,33]

От доброкачественной аденомы до злокачественной карциномы проходит ряд стадий, включающий развитие ранней аденомы, поздней и далее злокачественной карциномы. Этот путь обеспечивают два главных механизма геномной нестабильности: хромосомная. При хромосомной нестабильности происходит перестройка больших участков хромосом, что



выявляется в 85 % случаев рака толстой кишки. Микросателлитная нестабильность (RER+-фенотип) – молекулярно-генетический феномен, открытый в 1993 г. М. Perucci и отражающий дефект репарации неспаренных оснований ДНК (mismatchrepair, MMR), наблюдается в 15 % случаев рака толстой кишки. Система MMR ответственна за распознавание и удаление неправильно спаренных оснований, образованных в результате ошибок в процессе репликации ДНК. При нарушении данного механизма, мутации в геноме клетки накапливаются со значительно большей скоростью, чем в нормальном состоянии. Данные нарушения отражают различные повреждения в генах-супрессорах опухолей: *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *MLH1*, *PMS2*. Именно они ответственны за работу механизма MMR.[1,10]

Таким образом можно сказать, что патогенез опухолевых преобразований происходит в ходе многоступенчатого, гетерогенного процесса, характеризующегося генетическими изменениями.

### 1.3 Классификация рака прямой кишки

Рак прямой кишки классифицируется по нескольким группам признаков. Симптомы рака прямой кишки мало зависят от гистологического строения опухоли (вида клеток, которые входят в ее состав и строения ткани). Этот фактор определяет поведение опухоли, скорость и характер ее роста, влияет на специфику лечения и прогноз.[1,34]

Виды опухолей прямой кишки в зависимости от гистологического строения:[13]

- Аденокарцинома. Самая распространенная разновидность злокачественных опухолей прямой кишки. Выявляется в 75% - 80%. Образуется из железистой ткани, чаще всего встречается у лиц старше 50 лет. При исследовании под микроскопом можно выявить степень дифференцировки ткани опухоли. Различают высокодифференцированную, умеренно дифференцированную, низкодифференцированную и недифференцированную опухоль. Чем ниже

степень дифференцировки, тем более злокачественной является опухоль, хуже прогноз для пациента.

- Перстневидно-клеточный рак. Встречается в 3% - 4% случаев. Получил свое название из-за характерного внешнего вида клеток опухоли под микроскопом: в центре клетки находится просвет, а на периферии – узкий ободок с клеточным ядром – он напоминает перстень с камнем. Этот вид рака прямой кишки имеет неблагоприятное течение, многие пациенты погибают в течение первых трех лет.
- Солидный рак прямой кишки. Встречается редко. Происходит из железистой ткани. Состоит из низкодифференцированных клеток, которые уже не похожи на железистые и расположены в виде пластов.
- Скирозный рак (скир) – также редко встречаемая разновидность злокачественной опухоли прямой кишки. В ней относительно мало клеток и относительно много межклеточного вещества.
- Плоскоклеточный рак. Третья по распространенности (после аденокарциномы и перстневидно-клеточного рака) злокачественная опухоль прямой кишки – составляет 2% - 5% от общего количества. Этот вид опухоли склонен к раннему метастазированию. Часто его возникновение связывают с папилломавирусной инфекцией. Встречается практически только в нижней части прямой кишки, в области анального канала.
- Меланома. Опухоль из пигментных клеток – меланоцитов. Располагается в области анального канала. Склонна к метастазированию.

Классификация рака прямой кишки в зависимости от характера роста

- Экзофитный рак. Опухоль растет наружу, в просвет прямой кишки.
- Эндофитный рак. Опухоль растет внутрь, прорастает в стенку прямой кишки.
- Смешанная форма. Характеризуется одновременно экзофитным и эндофитным ростом.

Классификация рака прямой кишки по системе TNM. Данная классификация является основной. Стадия опухоли TNM обязательно указывается в медицинской карте пациента после постановки диагноза.[11,35]

Расшифровка аббревиатуры:

T – размер опухоли (tumor);N – метастазы в рядом расположенные лимфатические узлы (nodus);M – отдаленные метастазы в различных органах (metastasis).

Tx - размер опухоли не уточнен, отсутствуют необходимые данные;

T0 - опухоль не обнаружена;

Tis - опухоль insitu – «на месте», небольших размеров, не прорастает в стенку органа;

T1 - опухоль размером до 2 см;

T2 - опухоль размером 2 – 5 см;

T3 - опухоль размерами более 5 см;

T4 - опухоль любых размеров, которая прорастает в соседние органы: мочевого пузыря, матку и влагалище, предстательную железу и пр;

Nx - нет данных. Неизвестно, есть ли метастазы в лимфатических узлах;

N0 - метастазы в лимфатических узлах отсутствуют;

N1 - метастазы в лимфатических узлах, расположенных вокруг прямой кишки;

N2 - метастазы в лимфатических узлах, расположенных в паховой и подвздошной области с одной стороны;

N3 - метастазы в лимфатических узлах вокруг прямой кишки и в паховой области; метастазы в лимфатических узлах паховой области с двух сторон; метастазы в лимфатических узлах подвздошной области с двух сторон;

Mx - неизвестно, есть ли отдаленные метастазы в органах. Недостаточно данных;

M0 - отдаленных метастазов в органах нет;

M1 - Отдаленные метастазы в органах есть. [11,12]

Стадии рака прямой кишки в соответствии с классификацией TNM:[11,12]

Стадия 0 - T<sub>is</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>;

Стадия I - T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>;

Стадия II - T<sub>2-3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>;

Стадия IIIA - T<sub>1</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub>, T<sub>2</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub>, T<sub>3</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub>, T<sub>4</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>;

Стадия IIIB - T<sub>4</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub>, T<sub>любое</sub>N<sub>2-3</sub>M<sub>0</sub>;

Стадия IV - T<sub>любое</sub>N<sub>любое</sub>M<sub>1</sub>.

Существуют большое количество классификаций, различающихся по разным признаком, но основной классификацией является рака прямой кишки по системе TNM.

#### 1.4 Клинические проявления рака прямой кишки

На ранних стадиях рак прямой кишки протекает бессимптомно, именно по этой причине диагностика затруднена, значительно число случаев диагностируется после появления симптомов. Клинические проявления также зависят от стадии, на каком уровне расположена опухоль и характера её роста.

На ранних стадиях рак прямой кишки протекает бессимптомно, именно по этой причине диагностика затруднена, значительно число случаев диагностируется после появления симптомов. Клинические проявления также зависят от стадии, на каком уровне расположена опухоль и характера её роста. В основном крови выделяется немного. Наряду с кровью в кале появляются слизь и гной.[1, 14,36]

На более поздних стадиях появляются такие симптомы как, расстройства функций кишечника: неполная дефекация, запор, или может наоборот появиться понос. Боль в животе может возникать как с левой, так и с правой стороны, в зависимости от расположения опухоли. Это может быть признаком частичная обструкции, перитонеальным распространением опухоли, кишечной перфорации или даже перитонит. Пациенты, страдающие метастатическим раком прямой кишки могут проявлять с клинические

симптомы, в зависимости от расположения метастазов.

В редких случаях ректальные опухоли могут также возникать с кишечной непроходимостью, острое желудочно-кишечное кровотечение или перитонит после его перфорации в брюшную полость. Формирование фистулы в смежные органы (такие как мочевой пузырь), лихорадка неизвестного происхождения, абсцессы. [1]

Болевые ощущения у больных раком прямой кишки появляются при местном распространении опухоли, особенно при переходе его на окружающие органы и ткани. Лишь при раке аноректальной локализации (из-за вовлечения в опухолевый процесс зоны сфинктера прямой кишки) боли являются первым симптомом заболевания в ранней стадии. При этом больные стремятся садиться только на одну половину ягодицы - «симптом табуретки». [1,15]

Таким образом, существует большое количество причин, вызывающих рак прямой кишки, но судить о заболевании по одному симптому нельзя. Для постановки точного диагноза надо изучить все жалобы пациента.

### 1.5 Диагностика рака прямой кишки

Рак прямой кишки может подозреваться при наличии симптомов и при проведении ректальных обследований. Для того чтобы точно подтвердить наличие рака прямой кишки нужно провести гистологическое исследование ткани.

Сигмоидоскопия и колоноскопия – два метода, которые используются для диагностики и скрининга рака прямой кишки. Несмотря на то что гибкая сигмоидоскопия – является более точным методом диагностики ректального рака, колоноскопия также по-прежнему используется для оценки других частей толстой кишки. Кроме того, с помощью колоноскопии можно удалить полипы для проведения биопсии и визуализировать плоские или непаподобные аденомы на протяжении всей большой кишок. [1,15]

Ультразвуковое исследование живота: Позволяет с высокой степенью достоверности установить метастатическое поражение печени, глубину инфильтрации опухолью стенки кишки и окружающих тканей, выявить наличие абсцессов в зоне опухоли. Разрешающая способность ультрасонографии возрастает при использовании внутриспросветных датчиков. Для этого существуют не только жесткие конструкции с целью исследования органов таза, но и специальные устройства, вмонтированные в фиброколоноскоп.

С помощью ультразвукового исследования живота можно оценить поражение печени, ) может выявить локализованные раковые заболевания, связанные с слизистой оболочки и подслизистой оболочки мускулатура или перманентный жир, а также помогает предварительно по стадиям разделить онкологический процесс.[16]

Ирригография: Основным рентгенологическим симптомом рака прямой кишки является дефект наполнения при тугом ее заполнении контрастным веществом. Однако имеются и другие симптомы: атипичная перестройка рельефа слизистой оболочки, ригидность кишечной стенки, сужение участка кишки, ее фиксация. Дефект наполнения может быть в нескольких вариантах, и в первую очередь это зависит от размеров и макроскопической формы опухоли.[16]

Компьютерная томография: Используется для установления местной распространенности опухолевого процесса, а также выявления метастазов в регионарных лимфатических узлах.

КТ-признаки опухолевого поражения прямой кишки: наличие дополнительного внутриспросветного или внутрисклеточного образования с утолщением стенки кишки более 0,3 см; потеря эластичности (ригидность) стенки кишки в месте поражения; неровность, бугристость контуров пораженного участка; инфильтрация окружающей клетчатки (признак распространения опухоли за пределы кишечной стенки). [1]

Магнитно-резонансная томография: Является «золотым стандартом» в диагностике локального распространения рака прямой кишки. Он не только имеет установленную роль в начальной постановка опухоли, но также ее можно использовать для оценки ответа на лечение и локальное повторение.[1,18]

Для постановки точного диагноза необходимо в комплексе проводить различные исследования, благодаря которым вовремя можно выявить развивающийся рак прямой кишки.

### 1.6 Лечение больных раком прямой кишки

Различные типы методов лечения были предложены для пациентов с ректальным раком. Хирургическое лечение является основным для случаев с резекцией ректального рака. Согласно местонахождению опухоли и стадии, хирургическая резекция может быть выполнена в качестве единственного метода лечения или в комбинации с другим видом терапии. На данный момент ведутся исследования для того чтобы использовать лучевую терапию до операции.[3,19,20]

При хирургическом вмешательстве преследуются две цели это удаление непосредственно самой опухоли, а также лимфатические узлы. Также преследуется цель в сохранении непрерывности кишечника сфинктера когда это возможно.

В зависимости от резективности первичной опухоли и метастазов в печени,

доступно несколько вариантов лечения этих пациенты. Для пациентов с резекцией рак толстой кишки с резектируемыми метастазами в печени, резекция первичной опухоли печеночная резекция является предпочтительной стратегия. В этих случаях комбинированная резекция в одном этапе также может быть выполнено. Этот подход более сложный для ректального рак с потенциально резективной печенью метастазы.

При раке прямой кишки лечение может начаться с лучевой терапией с коротким курсом или длительной курс химиолучевой терапии с

последующей резекцией рака прямой кишки. Метастазы печени будут вырезаны на более поздней стадии. Лечение метастазов в печени состоит радикальной резекции и / или локального аблятива терапия (например, радиочастотная абляция) в сочетании с адьювантной химиотерапией.

Неoadьювантная терапия рекомендуется при низко расположенном раке прямой кишки, местного развития рака. Присутствие рака прямой кишки T4 является наиболее важным указанием на неoadьювантную терапию.

Он также рекомендуется пациентам с узловым положительным заболеванием. Кратковременная лучевая терапия и химиотерапия с длительным курсом Прогноз у пациентов, перенесших неoadьювантную химиолучевая терапия связана с конечной стадия опухоли и наличие лимфы узла в хирургическом образце. Уровень регрессии опухоли (TRG), который определяется степенью фиброза и процентом жизнеспособной опухоли, является еще одним фактором, влияющим на прогноз. [14,15,22,31]

Рецидивы рака прямой кишки возникают нередко в зоне рубцов и мягких тканей промежности. Лечение ограниченных рецидивов проводят путем повторных иссечений, в ряде случаев предпосылая им лучевую терапию.

### 1.7 Роль нейтрофильных гранулоцитов в прогрессировании злокачественных опухолевых заболеваниях

Нейтрофилы – это тканевые клетки, именно в тканях они в основном участвуют в воспалительных антимикробных реакциях, однако известно, что значительное их число мигрирует в секрет на поверхность слизистых оболочек гениталий, кишечника, бронхоальвеолярного дерева. Выходя в слизистый биослой, нейтрофилы активируются под действием резидентной флоры и секретируют биоцидные продукты, которые могут участвовать не только в антимикробной защите, но и в регуляции микробиоценозов, заселяющих соответствующие биотопы. Для нейтрофилов миграция на поверхность слизистых оболочек – это терминальная стадия, но в этой гибели есть биологический смысл. [24]



## 1.8 Особенности хемилюминесцентного анализа, оценивающего активность нейтрофильных гранулоцитов

Хемилюминесцентный анализ является наиболее перспективным методом, который оценивает функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов. Данный анализ дает информацию о нативном состоянии клеток и их функциональной активности. Так же с помощью хемилюминесцентного анализа можно непосредственно исследовать клеточный ответ при воздействии различных агентов, например, физиологических и патологических. А между хемилюминесценцией фагоцитов и собственно киллингом выявлен и доказан высокий уровень корреляции. [25]

Поэтому определение хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов является одним из критериев их собственной способности к завершённому фагоцитозу. Параметры хемилюминесцентной активности нейтрофилов обуславливается явлением «респираторного взрыва» основанного на наличии активных форм кислорода (супероксидный анион-радикал, перекись водорода, гидроксильный радикал, синглетный кислород и др.), обладающие бактерицидным действием. [25]

Метод детекции хемилюминесцентной активности клеток сыворотки крови позволяет изучать и отбирать фармакологические препараты основываясь на отношении стимулированной люминолзависимой хемилюминесценции до и после добавления в пробу лейкоцитарной взвеси исследуемых препаратов. [25]

Хемилюминесцентный анализ – это высокочувствительный, а главное достаточно безопасный диагностический метод для проверки непереносимости фармакологических препаратов. При непереносимости инкубации исследуемых препаратов в цельной крови происходит достоверное снижение генерации активных форм кислорода клетками неспецифического иммунитета, которые стимулируются неспецифическими активаторами. А снижение люминолзависимой хемилюминесценции

исследуемой крови с фармакологическими препаратами детектируется независимо от химических свойств медикамента. [25]

#### Основные стадии хемилюминесцентного анализа

Явление хемилюминесценции – явление свечения, которое обусловлено химическими реакциями. Хемилюминесценция довольно часто используется в практических целях, так как на ее основе можно создать высокочувствительные, безопасные и специализированные методики анализа разных биологических объектов. Явление свечения характеризуется экзотермическими реакциями, протекающими в 3 этапа: [26,31]

1. В первый этап происходит восстановление одного из участников реакции за счет присоединения электрона отсоединенного от второго, окисленного в ходе этой операции участника процесса. Вследствие чего происходит запасание химической энергии, которая в дальнейшем выделяется в виде кванта света. [26,31]

2. Второй этап включает в себя окислительно-восстановительную реакцию, присоединенный электрон переходит на более высокий энергетический уровень, в результате чего образуется электронно-возбужденный продукт. [26,31]

3. Третий этап характеризуется переходом электронно-возбужденной молекулы в основное состояние, при этом переходе высвобождается фотон. Вообще все химические реакции которые в последствии высвобождают квант света, обычно имеют ряд промежуточных стадий, но в целом стадии образования и энергии сходны. [26,31]

С помощью хемилюминесцентного анализа, можно детектировать короткоживущие свободные радикалы. Их делят на 4 большие группы: а) свободные радикалы активных форм кислорода, б) свободные радикалы липидов, в) свободные радикалы, которые осуществляют ферментативное дыхание в митохондриях, г) свободные радикалы естественных антиоксидантов. [26]

## Свободные радикалы хемилюминесценции клеток

При стимулировании фагоцитов, то есть гранулоцитов, моноцитов крови и макрофагов увеличивается их реакционная способность образовывать активные формы кислорода. Вследствие чего регистрируется свечение, которое усиливается при наличии в пробе органических стимуляторов люминола и люцигенина. Например, под воздействием кратковременных электрических импульсов на исследуемую кровь, происходит истощение плеточных мембран, вследствие чего, увеличивается ее проницаемость, тем самым стимулируется выход активных форм кислорода. Подобный эффект хемилюминесценции можно получить добавив суспензию некоторых бактерий, кристаллов кварца (или сульфат бария) и дополнительных химических веществ к сыворотке крови. Перечисленные агенты принято считать стимулами хемилюминесценции. В присутствии стимула (в данном случае люминол) происходит стимулированная хемилюминесценция. Она является важным показателем состояния функциональной активности фагоцитирующих клеток крови и тканей и состояния готовности выделять активные формы кислорода, выполняя защитную функцию. Данная способность увеличивается при появлении очагов воспаления в организме, при проникновении постороннего информационного агента (вирусы, бактерии) и в других случаях. Если происходит кислородное голодание клеток, связанное с ослаблением организма, происходит снижение активности и хемилюминесцентный ответ фагоцитирующих клеток. [27]

Интенсивность "респираторного взрыва" в клетках, продуцирующих активные формы кислорода, выражает собственно хемилюминесценцию при фагоцитозе. Оксиданты активированного кислорода могут быть первичными, это гидроксильный радикал ( $\text{OH}\cdot$ ), синглетный кислород ( $^1\text{O}_2$ ) и супероксидный анион-радикал ( $\text{O}_2\cdot^-$ ), а также вторичными, к ним относят продукты перекисного окисления липидов, хлорамины и гипохлорную кислоту. Первичные и вторичные метаболиты имеют большой

энергетический потенциал, придающий динамичность молекул. Так же метаболиты могут взаимопревращаться друг в друга и прямо или косвенно вовлекаться в процесс фагоцитоза. При взаимодействии высокоэнергетических метаболитов активированного кислорода с органическими люминесцирующими веществами (люминол, люцигенин), происходит окислительно-восстановительная реакция, в ходе которой люминесцирующие посредники переходят в электронно-возбужденное состояние и в дальнейшем при переходе в основное состояние испускают квант света. Детектирование этого светоизлучения является основой хемилюминесцентного анализа. Детекция производится с помощью специального прибора – хемилюминометра. [28]

Оксидативный стресс является ключевым моментом в патогенезе и течении практически всех болезней человеческого организма, а также в патологических процессах. И в таких случаях хемилюминесцентный анализ помогает измерять уровень свободных радикалов (АФК, NO) и оценивает параметры антиоксидантной защиты, влияние антиоксидантов. Хемилюминесценцию успешно применяют при изучении иммунных нарушений, нарушений метаболизма, дисфункции эндотелия, ишемии/реперфузии миокарда и мозга, онкологических и воспалительных заболеваний, а также многих других болезней, патогенез которых связан с оксидативным стрессом. [29]

Важными участниками регуляторных процессов в живых клетках и в то же время структурой, запускающей каскад реакций апоптоза являются свободные радикалы. Общеизвестна их ведущая роль в развитии практически всех болезней у лиц пожилого возраста и старении организма, свободные радикалы являются объектами многочисленных исследований. Однако их прямое обнаружение обычными биохимическими методами относительно невозможно из-за малой величины средней концентрации по времени активных частиц в живых клетках организма. Поэтому методика хемилюминесценции основана на измерении скорости реакции в

сопровождении свечения (данные реакции характерны именно для свободных радикалов), а не на биохимических анализах собственно веществ. [29]

Наиболее известные хемилюминесцентные реакции в биохимических системах – собственное (сверхслабое) свечение при цепном окислении липидов, реакции люминола с АФК (гидроксильным радикалом и супероксидом) и органическими радикалами, реакции люцигерина и ряда производных люцифериннов с супероксидным радикалом. Все они включают в себя на определенном этапе взаимодействие двух радикалов, которое позволяет образовавшейся молекуле накопить такое количество энергии, что ее оказывается достаточно для излучения фотона конечных продуктов. [29]

Исключением из этого правила могли бы показаться реакции активных молекул с пероксидом водорода, например, реакция гипохлорита с люминолом в присутствии  $H_2O_2$  (и некоторые другие, не упомянутые в данном обзоре). Но не следует забывать, что основная масса в наших клетках образуется в результате реакции взаимодействия двух супероксидных радикалов, катализируемой супероксиддисмутазой, поскольку именно супероксид – основной природный радикал, образуемый клеточными мембранами и митохондриями.  $H_2O_2$  в рассмотренном случае служит аккумулятором энергии взаимодействия радикалов, которая входит существенной составной частью в энергию возбужденного состояния конечного продукта реакции. [25]

Поэтому метод ХЛ стал одним из основных методов изучения свободнорадикальных процессов в научных и клинических исследованиях. [25]

## Материалы и методы

### 2.1 Материалы исследования

Объектом исследования явилась группа 64 больных РПК поступивших в КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского». Из них 25 мужчин и 39 женщин средний возраст которых составляет  $56 \pm 2,5$  лет. Больные подписывали форму информированного согласия на проведение исследования. Все разделы Хельсинкской декларации были соблюдены. Материалом для исследования использовалась кровь, взятая из локтевой вены на голодный желудок в вакутейнеры с добавлением раствора гепарина. Контрольную группу составили 100 практических здоровых лиц Красноярского Краевого Центра Крови №1 сопоставимых по полу и возрасту с основной группой.

### 2.2 Хемилюминесцентный анализ

Реактивы.

В методе хемилюминесцентного анализа используют такие реактивы как:

- Раствор Хенкса
- Уксусная кислота
- Люминол или люцигенин в концентрации 100 мкг/мл
- Зимозан или бактериальная суспензия *Staphylococcus epidermidis* или *Staphylococcus aureus* в концентрации (0,4 ОП)
- Физиологический раствор.

Принцип действия хемилюминесцентного анализа.

Метод хемилюминесцентного анализа основан на регистрации квантового потока, образующегося при переходе вещества из электронно-возбужденного в основное состояние. Наибольшее значение этот метод приобрел в исследовании воспалительных процессов, сопровождающихся образованием клетками активных форм кислорода (супероксидного анион-радикала, гидропероксидного и гидроксильного радикалов, пероксида

водорода, синглетного кислорода). Вследствие низкой интенсивности собственного свечения исследуемых образцов при хемилюминесцентном исследовании используются вещества, в частности люминол (5-амино-2,3-дигидро-1,4 фталазидинедион), способные многократно усиливать световой поток, который затем регистрируется датчиком и отображается в виде графика. По оси X откладывается время, по оси Y - интенсивность излучения, характеризующая число квантов света, попадающих на единицу поверхности датчика. Кривая ХЛ исследуемых клеток характеризуется уровнем спонтанной (ХЛсп) и активированной (ХЛакт) люминесценции (рис. 1). Для активации клетки использовался зимозан.[30]

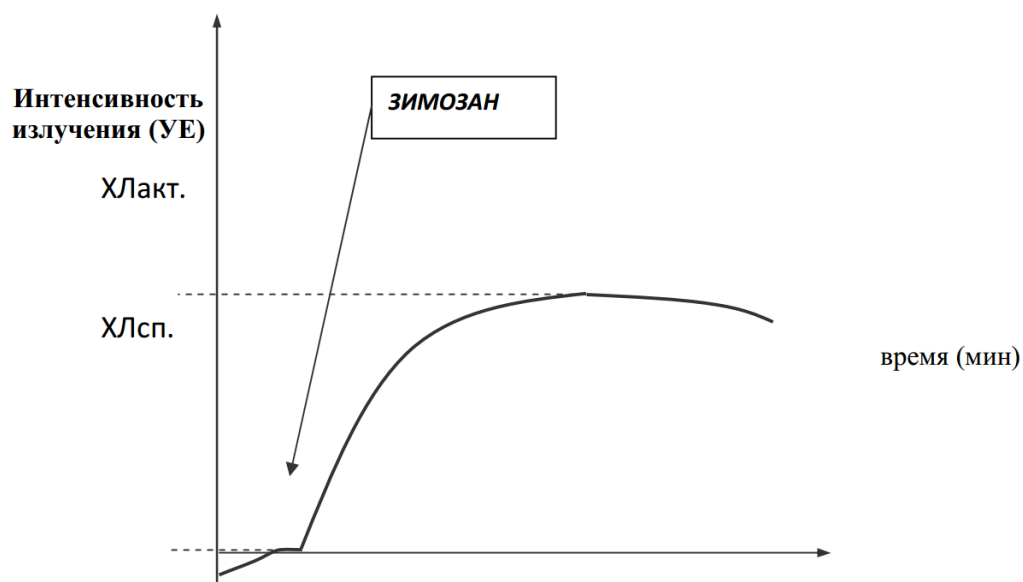


Рисунок 1 - График ХЛ фагоцитирующих клеток. Стрелкой на шкале времени показан момент активации клеток зимозаном

#### Методика определения хемилюминесценции

1. Лейкоцитарный супернатант дважды отмывают в растворе Хенкса без фенолового красного по 10 мин при 500g. Супернатант сливают, оставшиеся нейтрофильные гранулоциты разводят в 1 мл Хенкса и получают взвесь.
2. Для подсчета клеток в планшет добавляют 40 мкл уксусной кислоты и 10 мкл лейкоцитарной смеси и подсчитывают количество нейтрофильных гранулоцитов в камере Горяева в 5 больших квадратах по диагонали. Количество клеток

определяют по формуле  $(X1 \cdot 11 \cdot 1000) / 0,02 = (X2 / 2000000) - 1$  количество Хенкса необходимо добавить к 1 мл лейкоцитарной суспензии, где  $X1$  – суммарное количество клеток в 5 квадратах,  $X2$  – количество нейтрофилов в 1 мл суспензии (необходимое количество клеток  $2 \cdot 10^6$  в 6 степени).

3. Для проведения хемилюминесцентного анализа используют следующие реактивы: донорскую сыворотку (группа крови АВ резус-фактор отрицательный), раствор Хенкса (без фенолового красного), люминол или люцигенин в концентрации 100 мкг/мл.

- Готовят пробу: 200 мкл взвеси нейтрофильных гранулоцитов, 20 мкл донорской сыворотки, 240 мкл раствора Хенкса, 50 мкл люминола или люцигенина и 40 мкл зимозана или бактериальной суспензии *Staphylococcus epidermidis* или *Staphylococcus aureus* в концентрации (0,4 ОП).

- Бактериальную взвесь делают из суточной бактериальной культуры, которую разводят в 3 мл физиологического раствора.

- Концентрацию клеток измеряют на приборе КФК-2 при  $\lambda = 590$  нм относительно физ. раствора, затем доводят физиологическим раствором концентрацию бактериальной суспензии до 0,4 ОП.

4. Хемилюминесцентный анализ проводят в 8 кюветах (в первых 4 используем люминол; во вторые 4 добавляем люцигенин). Спонтанная хемилюминесценция осуществляется без добавления индуктора, во вторую кювету добавляют зимозан, в третью бактериальную суспензию *Staphylococcus epidermidis*, в четвертую *Staphylococcus aureus* при помощи хемилюминесцентного анализатора, например «CL.3604» в течение 90 мин. Регистрация результатов и управление хемилюминесцентным анализатором осуществляется через компьютер. Получают кривую хемилюминесценция. Определяют величину  $T_{max}$ ,  $I_{max}$ ,  $S_{max}$  для каждого показателя (спонтанная хемилюминесценция, зимозан-зависимая хемилюминесценция и стафилококк-зависимая хемилюминесценция).» [23]



Расчеты.

О функциональном состоянии нейтрофилов судили по величине спонтанной ХЛ, активированной ХЛ и хемилюминесцентному индексу – ИХЛ, отражающему резервные возможности клеток:

$$И_{ХЛ} = \frac{ХЛ_{акт} - ХЛ_{сп}}{ХЛ_{сп}},$$

где ХЛ<sub>сп</sub> – максимальный показатель спонтанного теста, ХЛ<sub>акт</sub> – максимальный показатель стимулированного теста хемилюминесценции.

### 2.3 Статистический метод

Базу данных и статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 8,0(StatSoftInc., США, 2007). Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (С25 и С75). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни. Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции по Спирмену. Коэффициент достоверности  $p < 0,05$  считали достоверным показателем.

## Результаты и обсуждения

Из текста магистерской диссертации изъяты результаты интеллектуальной деятельности, которые имеют потенциальную коммерческую научную ценность в силу неизвестности их третьим лицам.

## Список литературы

1. Григорьев Е.Г., Шелехов А.В. Рак прямой кишки / Е.Г. Григорьев, А.В. Шелехов // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН – 2015, - №1 (101) – 84-90с.
2. Бутенко А.В., Разбирин В.Н. Рак прямой кишки современные направления и тенденции в лечении (обзор литературы) / А.В. Бутенко, В.Н. Разбирин// Сибирский онкологический журнал – 2011, - №6 (48) – 83-89 с.
3. Демин А.А., Берзин С.А. Влияние различных режимов индукционной терапии рака прямой кишки на уровень лечебного патоморфоза/ А.А. Демин, С.А. Берзин // Оригинальные исследования. Онкология – 2012, №04 (965) – 46-49 с.
4. Земсков А.М. Клиническая иммунология учебное пособие для студентов медицинских вузов / под ред. А.М. Земскова М.: ГЭОТАР – Медиа – 2005, - 20 с.
5. Короткова Е.А. Иванников А.А. Рак желудка: молекулярно – биологические особенности/ Е.А. Короткова, А.А. Иванников // Вестник ТГУ – 2014, - Т.19, - №3, - 957-969 с.
6. Куликов В.А. Беляева Л.Е. Метаболическое перепрограммирование раковых клеток / В.А. Куликов Л.Е. Беляева // Вестник ВГМУ – 2013, - Т.12, - №2 – 6-18 с.
7. Половинкин В.В., Волков А.В., Туровая А.Ю., Голованова С.А., Колесникова Е.С. Распространенность, гистоморфологическая характеристика и прогноз рака прямой кишки в Краснодарском крае / В.В. Половинкин, А.В. Волков, А.Ю. Туровая, С.А. Голованова, Е.С. Колесникова  
//INTERNATIONALJOURNALOFAPPLIEDANDFUNDAMENTALRESEARCH– 2014,- №8 – 130-131 с.
8. Наумов Л.А. Осипова О.Н. рак желудка: отдельные механизмы патогенеза/ Л.А. Наумов О.Н. Осипова// Фундаментальные исследования - №1, - 2015, - 1072 с.

9. Информационный бюллетень №297 Февраль 2015 г. [Электронный ресурс] / Всемирная организация здоровья. Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/ru/>(Дата обращения 15.05.2017)
10. Соколова Е.А., Боярских У.А., Кель А.Э, Филипенко М.Л. Регуляторные механизмы патогенеза рака прямой кишки / Е.А. Соколова, У.А. Боярских, А.Э. Кель, М.А. Филипенко // Евразийское научное объединение – 2015, - Т.1, - №2 – 1-4 с.
11. TNM: Классификация злокачественных опухолей / Под ред. Л.Х. Собина и др.; пер. с англ. и научн. ред. А.И. Щёголев, Е.А. Дубова, К.А. Павлов. — М.: Логосфера, 2014. — 304 с. :12,5 см. — Перевод изд. TNMClassificationofMalignantTumours, 7th ed. — ISBN 978-5-98657-025-9
12. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований / Глава 11 Рак прямой кишки (C20) - Минск – 2012, - 112-121с.
13. Гордеев С.С., Барсуков Ю.А., Ткачев С.И., Царюк В.Ф., Перувощиков А.Г. С.С. Гордеев С.С., А. Барсуков Ю.А., С.И. Ткачев С.И., В.Ф. Царюк В.Ф., А.Г. Перувощиков А.Г. Местнораспространенный рак прямой кишки (mrrРПК): определение, классификация, современные методы лечения /С.С. Гордеев, Ю.А. Барсуков, С.И. Ткачев, В.Ф. Царюк, А.Г. Перувощиков// Вестник – 2014, - №2 – 1-6 с.
14. Правосудов И.В., Алиев И.И., Шулепов А.В., Крживицкий П.И. Мультидисциплинарный подход к лечению больных раком прямой кишки: оценка клинического и патологического ответа у больных, получавших предоперационную химиолучевую терапию / И.В. Правосудов, И.И. Алиев, А.В. Шулепов, П.И. Крживицкий // Онкологическая колопроктология – 2012, - 7-10с.
15. Корольков В.Р. Современные подходы к диагностике и лечению рака прямой кишки / В.Р. Корольков // Главный врач. Онкология - 2016, - №2 (49) – 52-57 с.

16. Кожевникова Л.Н., Дюсенова Б.Д. Современные принципы диагностики и скрининга рака прямой кишки / Л.Н. Кожевникова, Б.Д. Дюсенова// Вестник ИГПИ им. П.П. Ершова – 2014, - №4 (16) – 37-39 с.
17. Кохнюк В.Т. Рак прямой кишки в Республике Беларусь: распространенность, диагностика и результаты лечения / В.Т. Кохнюк// Онкологическая колопроктология – 2013,- 31-34 с.
18. Усова А.В., Фролова И.Г., Афанасьев С.Г., Тарасова А.С. Возможности МРТ в диагностике и оценке эффективности лечения рака прямой кишки / А.В. Усова, И.Г. Фролова, С.Г. Афанасьев, А.С. Тарасова // Сибирский онкологический журнал – 2012, - №5 (53) – 74-79 с.
19. Малихов А.Г., Барсуков Ю.А., Ткачев С.И., Кузьмичев Д.В., Назаренко А.В. Рак прямой кишки: некоторые аспекты. Современная стратегия лечения больных раком прямой кишки с высоким риском прогрессирования / А.Г. Малихов, Ю.А. Барсуков, С.И. Ткачев, Д.В. Кузьмичев, А.В. Назаренко // Вестник ФГБУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина" – 2015, - Т. 26, - №2 – 25-30с.
20. Дворниченко В.В., Афанасьев С.Г., Шелехов А.В., Москвина Н.А. Лучевая терапия в комбинированном лечении рака прямой кишки (обзор литературы) / В.В. Дворниченко, С.Г. Афанасьев, А.В. Шелехов, Н.А. Москвина // Сибирский онкологический журнал – 2014, - №1 (31) – 72-77с.
21. Эктов В.Н., Коротких Н.Н. Роль химиолучевой терапии в комплексном лечении рака прямой кишки / В.Н. Эктов, Н.Н. Коротких // Вестник новых медицинских технологий – 2013, – Т. XIX, - № 2 – 159-161с.
22. Алиев И.И., Гуляев А.В., Правосудов И.В., Каранчун А.М. Современные принципы и подходы к лечению больных местнораспространенным раком прямой кишки / И.И. Алиев, А.В. Гуляев, И.В. Правосудов, А.М. Каранчун// Вопросы онкологии – 2013, - Т. 58, - №2 – 203-206 с.

23. Дмитриева Н.Ю. Савченко А.А.  
Вычислительное моделирование динамики хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов / Н.Ю. Дмитриева А.А. Савченко // Journal of Siberian Federal University. Mathematics & Physics - 2008, - 1(4). - 435-442 с.
- 24.
25. Разработка хемилюминесцентного метода подбора иммуноактивных препаратов для персонализированного лечения пациентов с инфекционно-воспалительными заболеваниями [Электронный ресурс] / А. Борисов // Startbase. Режим доступа: <http://www.startbase.ru/knowledge/articles/152/> (Дата обращения 15.05.2018)
26. Винник Ю.С. Савченко А.А. Клинические аспекты применения хемилюминесцентного анализа/ Ю.С. Винник А.А. Савченко // Сибирское медицинское обозрение - 2006, - №3, - 42-44 с.
27. Грачева Т.А. Совершенствование хемилюминесцентного метода исследования функциональной активности фагоцитирующих клеток // Клиническая лабораторная диагностика. - 2014. - №2. - 54-55 с.
28. Blazheevskiy M. Ye., Bondarenko N. Yu. Chemiluminescence-based kinetic determination of drug / M. Ye. Blazheevskiy N. Yu. Bondarenko // Методы химического анализа, 2011, - Т. 6, - №3. - 124-142 с.
29. Владимиров Ю.А. Проскурнина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция : под редакцией / Ю.А. Владимиров Е.В. Проскурнина – Москва : Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, - 2014, - 341-388 с.
30. Дмитриева Н.Ю. Савченко А.А.  
Вычислительное моделирование динамики хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов / Н.Ю. Дмитриева А.А. Савченко // Journal of Siberian Federal University. Mathematics & Physics - 2013, - 1(4). - 435-442 с.

31. Mohammad Sadegh Fazeli, Mohammad Reza Keramati Rectal cancer: a review / Mohammad Sadegh Fazeli, Mohammad Reza Keramati // Medical Journal of the Islamic Republic of Iran (MJIRI). – 2015.- V.29.171.31
32. *J. Joshua Smith and Julio Garcia-Aguilar* Advances and Challenges in Treatment of Locally Advanced Rectal Cancer / *J. Joshua Smith and Julio Garcia-Aguilar* // JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY. – 2015. – p. 1797-1810
33. Wolfgang B Gaertner, Mary R Kwaan, Robert D Madoff, Genevieve B Melton Rectal cancer: An evidence-based update for primary care providers / Wolfgang B Gaertner, Mary R Kwaan, Robert D Madoff, Genevieve B Melton // World J Gastroenterol. – 2015. – 7659-7672 p.
34. Andrea Vignali, Paola De Nardi Multidisciplinary treatment of rectal cancer in 2014: Where are we going?/ Andrea Vignali, Paola De Nardi // World J Gastroenterol. – 2014. – 11249-11262 p.
35. Youngjee Choia,n, HeatherF.Sateia, KimberlyS.Peairs, RosalynW.Stewart Screening for colorectal cancer / YoungjeeChoi, HeatherF.Sateia, KimberlyS.Peairs, RosalynW.Stewart // Seminars in Oncology. – 2017. – 34-44 p.
36. Manish Chand, Jemma Bhoday, Gina Brown, Brendan Moran, Amjad Parvaiz Laparoscopic surgery for rectal cancer / Manish Chand, Jemma Bhoday, Gina Brown, Brendan Moran, Amjad Parvaiz // Journal of the Royal Society of Medicine. – 2012. – 429-435 p.
37. E. Gonza´lez-Flores, F. Losa, C. Pericay, E. Polo, S. Rosello, M. J. Safont, R. Vera, J. Aparicio, M. T. Cano Clinical Guideline of localized rectal cancer / E. Gonza´lez-Flores, F. Losa, C. Pericay, E. Polo, S. Rosello, M. J. Safont, R. Vera, J. Aparicio, M. T. Cano// Clin Transl Oncol. – 2016. – 1163-1171 p.
38. Ik Yong Kim, Sei Hwan You, Young Wan Kim Neutrophil-lymphocyte ratio predicts pathologic tumor response and survival after preoperative

- chemoradiation for rectal cancer / Yong Kim, Sei Hwan You, Young Wan Kim // licensee BioMed Central. – 2014. – 1 – 7 p.
39. Lijun Shen, Hui Zhang, Liping Liang, Guichao Li, Ming Fan, Yongxin Wu, Ji Zhu and Zhen Zhang Baseline neutrophil-lymphocyte ratio ( $\geq 2.8$ ) as a prognostic factor for patients with locally advanced rectal cancer undergoing neoadjuvant chemoradiation / Lijun Shen, Hui Zhang, Liping Liang, Guichao Li, Ming Fan, Yongxin Wu, Ji Zhu and Zhen Zhang // Shen et al. Radiation Oncology. – 2014. – 1 – p.
40. Alyssa D. Gregory A. McGarry Houghton Tumor-Associated Neutrophils: New Targets for Cancer Therapy / Alyssa D. Gregory A. McGarry Houghton // American Association for Cancer Research. – 2015. – 2411-2416



Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
институт  
Медицинской биологии  
кафедра

УТВЕРЖДАЮ  
Руководитель магистерской  
программы

Шиш Е.И. Шишацкая  
подпись      инициалы, фамилия  
« 18 » июль 20 18 г.

**МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ**

Особенности хемилюминесцентной активности нейтрофильных  
гранулоцитов у больных раком прямой кишки  
тема

06.04.01.05 Реконструктивная биоинженерия  
код и наименование магистерской программы

Научный руководитель Смир  
подпись, дата

профессор, д.м.н. О.В. Смирнова  
должность, ученая степень      инициалы, фамилия

Выпускник Волч  
подпись, дата

К.С. Волчкова  
инициалы, фамилия

Рецензент Моск  
подпись, дата

с.н.с., к.б.н. О.Л. Москаленко  
должность, ученая степень      инициалы, фамилия

Красноярск 2018