

А.П. Бурлака
 І.І. Ганусевич
 А.В. Вовк
 Л.Д. Гуменюк
 В.В. Гончаренко

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

Ключові слова: рак шлунка,
 дисфункціональна жирова
 тканина, ожиріння,
 супероксидні радикали,
 матриксні металопротеїнази,
 мітохондріальна дисфункція.

РЕДОКС-СТАН ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ: ВПЛИВ НА МІКРООТОЧЕННЯ ТА ПРОГРЕСУВАННЯ РАКУ ШЛУНКА

Ожиріння є важливим фактором розвитку та перебігу деяких видів злоякісних новоутворень, зокрема пухлини шлунково-кишкового тракту. Жирова тканина (ЖТ) негативно впливає на функції інших тканин та органів, і таким чином ожиріння погіршує перебіг онкологічного захворювання, але механізми, які відповідають за ці взаємодії, сьогодні не повною мірою з'ясовані. **Мета:** дослідити редокс-стан прилеглої до пухлини ЖТ (ППЖТ), його зв'язки з деякими показниками мікрооточення та метастазування раку шлунка (РШ). **Об'єкт і методи:** досліджено 11 зразків нормальної ЖТ (НЖТ) від практично здорових людей (після ліпосакції); зразки пухлини, ППЖТ та ЖТ на відстані 3 см від пухлини 45 хворих на РШ II–IV стадій. Наявність ожиріння у хворих на РШ визначали шляхом підрахунку та інтерпретації індексу маси тіла. Використано методи електронно-парамагнітного резонансу, зимографії в поліакриламідному гелі, імуногістохімічні, біохімічні, статистичні методи. **Результати:** мітохондріальна дисфункція адипоцитів спричинює зміни редокс-стану ППЖТ при РШ та, як наслідок, відповідну активацію редоксзалежних факторів. Швидкість генерування супероксидних радикалів (СР) у мітохондріях адипоцитів ППЖТ достовірно (майже у 4 рази) вища, ніж у НЖТ, а рівні окисно-індукованих мутацій ДНК та активності желатинази співвідносяться із рівнями генерування СР мітохондріями адипоцитів. Дефекти в механізмі окисного фосфорилування активують низку редоксзалежних факторів у пухлині: гіпоксія-індукований фактор (HIF-1α), пухлиноасоційовані макрофаги, пухлиноасоційовані адипоцити. Дисфункціональна ЖТ є модифікатором мікрооточення РШ, що зумовлює його прогресування. Дисбаланс редокс-стану дисфункціональної ЖТ асоційований з ожирінням, а ступінь його вираженості корелює з індексом маси тіла пацієнтів. Високі рівні генерування СР та активності желатиназу у ППЖТ є важливими чинниками прогресування пухлини, асоційовані з віддаленим метастазуванням та можуть мати прогностичне значення при лікуванні РШ. **Висновок:** розуміння редокс-механізмів симбіозу клітин пухлини і адипоцитів виявить нові мішені та прогностичні маркери для лікування хворих на рак з надмірною масою тіла, що відкриває нові підходи до індивідуалізації протипухлинної терапії.

ВСТУП

Ожиріння є важливим фактором розвитку та перебігу деяких видів раку, зокрема пухлин шлунково-кишкового тракту. Сучасні епідеміологічні дослідження показують, що надмірна маса тіла й ожиріння є причиною 14% всіх випадків смерті від онкологічних захворювань серед чоловіків та 20% — серед жінок [1]. Відомо, що жирова тканина (ЖТ) негативно впливає на функції інших тканин та органів, і таким чином ожиріння погіршує перебіг онкологічного захворювання [2, 3], але механізми, які відповідають за ці взаємодії, сьогодні не повною мірою з'ясовані. Нещодавно було показано, що при взаємодії ЖТ з пухлинними клітинами (ПК) адипоцити перепрограмуються в пухлиноасоційовані адипоцити (ПАА) [4]. ПАА секретують адіпокіни, які стимулюють адгезію,

міграцію та інвазію ПК, підвищують їх здатність до метастазування. Також у зв'язку з необхідністю підтримувати високі темпи проліферації синтез білка і ДНК в ПК прискорений і відбувається з великими енерговитратами [5]. Тому накопичення ліпідів адипоцитами в пухлинному мікрооточенні становить енергетичну основу пухлинної прогресії [6]. Дисфункції адипоцитів викликають численні патологічні зміни. Наприклад, дисфункціональними адипоцитами продукується надлишок вільних жирних кислот, які окиснюються і спричиняють токсичний вплив — пошкоджують клітинні мембрани сусідніх клітин, ендоплазматичний ретикулум та мітохондрії [7, 8], що призводить до порушення окисно-відновного балансу та окисного стресу. З іншого боку, токсичні окиснені жирні кислоти у міжклітинному просторі сти-

мулюють реакції запалення, сприяють накопиченню макрофагів та нейтрофілів у ЖТ. У відповідь включаються реакції, направлені послабити токсичність — вільні жирні кислоти етерифікуються до інертного триацилгліцерину. Таким чином, у результаті енергетичного дисбалансу відбуваються надмірне накопичення триацилгліцеринів, гіпертрофія адипоцитів, що в кінцевому рахунку призводить до ожиріння.

Коли стан надлишку енергії стає хронічним (наприклад при ожирінні або метаболічному синдромі), дисфункція ЖТ поглиблюється. Зокрема, гіпертрофовані адипоцити секретують більшу кількість прозапальних адипокінів, у тому числі фактора некрозу пухлини, інтерлейкінів-6 та -8 [9]. Підвищення секреції білків запалення призводить до інфільтрації лімфоцитами і макрофагами, істотним чином змінюючи мікросередовище ЖТ. Показано, що вони можуть становити до 50% клітинної маси ЖТ при ожирінні порівняно з 5–10% в осіб без ожиріння [10]. Масивна інфільтрація ЖТ макрофагами призводить до хронічного запалення, причому активовані макрофаги є істотним чинником прозапальних цитокінів, які впливають не лише на місцевий, але й на системний енергетичний гомеостаз [11–13]. Так, показано, що видалення або інгібування прозапальних адипокінів знижує накопичення макрофагів і резистентність до інсуліну у мишей [12]. Високі рівні секреції адипокінів та цитокінів у ЖТ призводять до подальшого посилення ліполізу та циркуляції вільних жирних кислот, тобто до подальшого метаболічного дисбалансу.

Гіпертрофована і дисфункціональна ЖТ при ожирінні характеризується активацією генерування супероксидних радикалів (СР). Відомо, що основним джерелом таких змін, які чинять пошкоджувальний вплив на тканину, є мітохондрії. Мітохондрії — основні редокс-формулючі органели в клітині, які генерують СР та оксид азоту (NO) [14]. У міжклітинному просторі редокс-стан формується витоком активних форм кисню (АФК) із клітин та мігрованими нейтрофілами, макрофагами. Редокс-стан, або редокс-баланс, — це ступінь окиснення тканин. Він регулює експресію генів, змінює стабільність білків, модулює клітинні програми. Зміна редокс-стану пов'язана з агресивністю злоякісних пухлин і є основною ознакою канцерогенезу. Сучасні дослідники вважають, що нові терапевтичні стратегії будуть базуватися на тонкому регулюванні АФК-залежної внутрішньоклітинної сигналізації з метою блокування АФК-залежних ініційованих пухлиною подій та активації АФК-залежного шляху апоптозу [15].

Зважаючи на викладені вище факти, ми поставили за мету дослідити редокс-стан прилеглої до пухлини жирової тканини (ППЖТ), його зв'язки з деякими показниками мікрооточення та метастазуванням раку шлунка (РШ).

Досліджено зразки пухлини, ППЖТ та ЖТ на відстані 3 см від пухлини (ЖТВ) 45 хворих на РШ II–IV стадій, які проходили лікування в Національному інституті раку МОЗ України. Хворі не отримували передопераційної терапії. Як контроль використали ЖТ 11 пацієнтів без онкологічної патології (нормальну ЖТ — НЖТ), отриману після виконання ліпосакції у спеціалізованому медичному центрі. Дослідження виконували відповідно до принципів проведення біомедичних досліджень, що викладені в Гельсінській декларації Всесвітньої медичної асоціації. Пацієнти були проінформовані та дали згоду на використання хірургічного матеріалу в дослідницьких цілях.

За гістологічною структурою переважну частину досліджуваних пухлин становили аденокарциноми (60%) та недиференційований рак (30%), за ступенем диференціації — G₃ (45%), за локалізацією — пухлини нижньої третини шлунка (50%). Обстежених пацієнтів розподілили майже рівномірно за стадіями II, III (24 та 29% відповідно), хворі з IV стадією становили 47%. Переважали пацієнти з категоріями T3 (42%) та N1–2 (68%), за категоріями M0 та M1 розподіл рівномірний (53 та 47% відповідно).

Наявність ожиріння у хворих на РШ визначали шляхом підрахунку та інтерпретації індексу маси тіла (ІМТ). ІМТ (англ. body mass index — BMI) — показник, що дозволяє оцінити ступінь відповідності маси тіла людини зросту. ІМТ розраховували за формулою [16]:

$$I = \frac{m}{h^2},$$

де: m — маса тіла в кілограмах, h — зріст в метрах.

Інтерпретація показників ІМТ (відповідно до рекомендацій ВООЗ): при ІМТ ≤ 16,0 визначається дефіцит маси тіла, 16,0–18,5 — недостатня маса тіла, 18,5–24,9 — нормальна маса тіла, 25,0–30,0 — зайва маса тіла (передожиріння), 30,0–35,0 — ожиріння I ступеня, 35,0–40,0 — ожиріння II ступеня, ≥ 40,0 — ожиріння III ступеня (морбідне).

Рівні генерування СР та NO[•] (радикальної форми оксиду азоту) вимірювали з використанням методу електронно-парамагнітного резонансу (ЕПР) за технологією Spin Traps.

Для вимірювання рівнів активності Комплексу I електронтранспортного ланцюга (ЕТЛ) мітохондрій методом ЕПР із ЖТ готували зразки за допомогою спеціальної прес-форми та низькотемпературної стабілізації. Рівні активності Комплексу I ЕТЛ у мітохондріях реєстрували при температурі рідкого азоту (77 К) у парамагнітно чистому кварцовому д'юарі [17]. Спектри ЕПР фіксували при T=77 К разом із незалежним стандартом інтенсивності, в якості якого використано спеціально орієнтований монокристал рубіну з відомою кількістю парамагнітних центрів. Інтенсивність стандарту прийнято за 1 відн. од. вимірювань.

Молекулярний маркер окисного пошкодження ДНК — 8-охоG — визначали методом аналізу ультрафіолетових спектрів елюатів після їх твердофазної екстракції із ЖТ. Окиснений продукт гуаніну екстрагували із ЖТ на колонці твердофазної екстракції («Merck», Німеччина) [18].

Також в отриманих зразках ЖТ визначали концентрацію активних та латентних форм матриксних металопротеїназ-2 та -9 (ММП-2 та -9, або желатиназ) методом зимографії в поліакриламідному гелі (із додаванням желатину як субстрату) на основі SDS-електрофорезу білків [19]. Після відмивання гелю активні форми ММП-2 та -9 візуалізувалися у вигляді знебарвлених смужок на синьому тлі, локалізація яких визначалася за стандартами молекулярної маси («Sigma») і відповідала молекулярній масі кожного із ферментів (72 та 92 кДа відповідно). Оцінку протеолітичної активності проводили шляхом вимірювання площі зони лізису, використовуючи для порівняння стандартний набір ММП-2 і -9 («Sigma»). За умовну одиницю (у.о.) прийнято активність 1 мкг ферменту в 1 г вихідного контрольного зразка. Результати оцінювали за допомогою стандартної програми TotalLab 1.01. Сумарну активність желатиназ визначали додаванням значень активності ММП-2 та -9 в умовних одиницях.

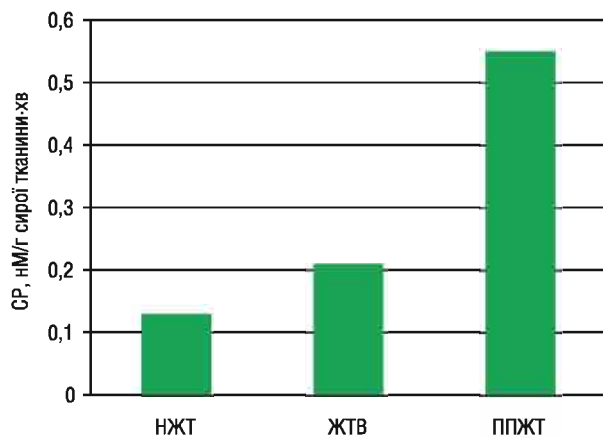
Імуногістохімічне визначення індукованого гіпоксії фактора (HIF-1 α), CD68- (маркер пухлиноасоційованих макрофагів — ПАМ), Plin5-позитивних клітин (маркер пухлиноасоційованих адипоцитів — ПАА) проведено на парафінових зрізах тканини РШ з використанням МкАТ проти HIF-1 α людини (клон H1alpha67, «Abcam», Великобританія), проти CD68 (клон PG-M1, «DakoCytomation», Данія), Plin5 (клон PAI-46215, «Thermoscientific», США). Наявність реакції визначали й візуалізували за допомогою полімерпероксидазного методу (EnVision+/HRP та 3,3-діамінобензидину; «DakoCytomation», Данія) з подальшим забарвленням гематоксиліном Майєра. В якості негативного контролю як заміну первинних антитіл використовували PBS. Позитивні клітини були підраховані на 1000 клітин на кожному зрізі при збільшенні $\times 400$, їхню кількість рахували у відсотках. Якщо в пухлині виявляли більше ніж 10% імунореактивних клітин, то такі зразки вважалися «позитивними».

Статистична обробка. Проводили статистичну обробку даних з використанням методів варіаційної статистики із застосуванням програм «STATISTICA 8.0» та «Prism 4.0». Вірогідність відмінностей між показниками оцінювали, використовуючи *t*-критерій Стьюдента. Вживаність хворих аналізували за методом Каплана — Мейєра, вірогідність розбіжностей між кривими виживаності визначали за допомогою log-rank тесту. Статистична значущість прийнята при $p < 0,05$.

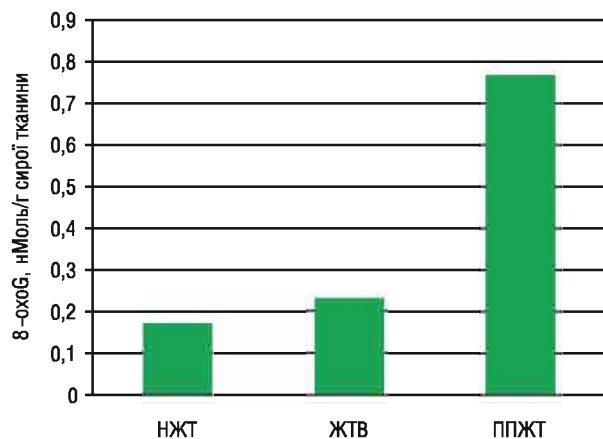
РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані результати демонструють, що при РШ швидкість генерування CP в мітохондріях адипо-

цитів ЖТВ дещо вища від НЖТ, а в ППЖТ — майже у 4 рази достовірно вища, ніж в НЖТ (рис. 1, а). Таку саму динаміку змін спостерігали щодо рівня 8-охоG — маркера окисно-індукованих мутацій ДНК, який в ППЖТ в 4,5 рази достовірно вищий, ніж в НЖТ, і в 3,5 рази достовірно вищий, ніж в ЖТВ (рис. 1, б). Тобто рівні окисно-індукованих мутацій ДНК у досліджених зразках ЖТ співвідносяться із рівнями генерування CP мітохондріями адипоцитів.



а



б

Рис. 1. Швидкість генерування CP в мітохондріях адипоцитів (а) та рівень 8-охоG в ЖТ (б)

Відомо, що однією з характеристик гіпертрофованої та запаленої ЖТ є підвищені рівні деструкції міжклітинного матриксу. Нами досліджено активність желатиназ, які роблять значний внесок у розщеплення міжклітинного матриксу на рівні денатурованих колагенів, є редокс-регульованими ферментами та критичними молекулами метастазування [20]. Виявлено, що показники активності ММП-2 та -9 наростають від НЖТ до ЖТВ та в ППЖТ сягають значень у 3,3–4,0 рази вищих від НЖТ (рис. 2).

Таким чином, вплив пухлини на ЖТ при безпосередньому контакті з нею характеризується зростанням швидкості генерування CP адипоцитами, а в наслідок цього — підвищенням рівнів окисно-

індукованих мутацій ДНК та деструкції міжклітинного матриксу в ППЖТ.

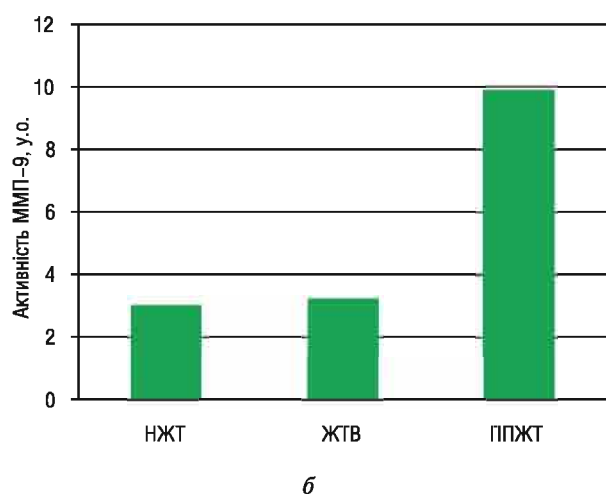
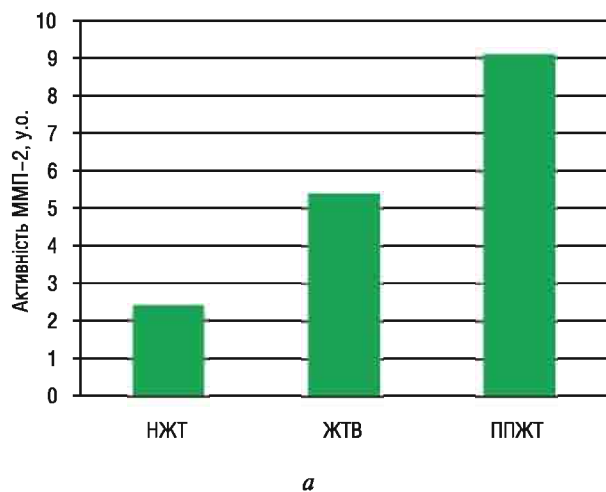


Рис. 2. Активність MMP-2 (а) та MMP-9 (б) в ЖТ

З метою виявлення тригерів таких подій у ППЖТ досліджено функціональний стан мітохондрій, а саме — активність Комплексу I ЕТЛ мітохондрій адипоцитів. Показано, що ця активність у ЖТВ дещо нижча, ніж в НЖТ, а в ППЖТ — достовірно (в 3 рази) знижується порівняно з НЖТ (рис. 3). Тобто мітохондріальна дисфункція адипоцитів спричинює зміни редокс-стану ППЖТ та, як наслідок, відповідну активацію редоксзалежних факторів.

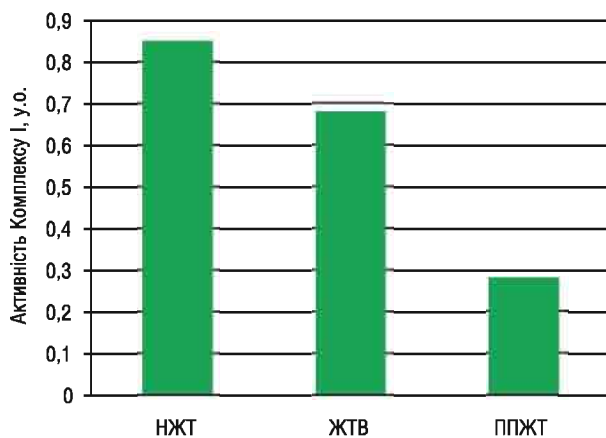


Рис. 3. Активність Комплексу I ЕТЛ мітохондрій адипоцитів

Сьогодні одним із питань, яке ще чекає на відповідь, є питання співвідношення характеристик дисфункціональної ЖТ із наявністю зайвої маси тіла у пацієнтів. Чи є дисфункція ЖТ притаманною лише хворим на ожиріння, чи може спостерігатися і в осіб з нормальною масою тіла? Наразі дослідники не мають однозначного висновку з цього приводу. Тому ми дослідили зв'язки між деякими редокс-показниками в ЖТ та ІМТ хворих на РШ. Виявлено, що при ожирінні швидкість генерування СР мітохондріями адипоцитів ППЖТ достовірно вища, ніж у хворих з нормальною масою тіла (рис. 4). Сумарна активність желатиназ (ММП-2 та -9) у ППЖТ пацієнтів з ожирінням також вища, ніж за нормальної маси тіла (рис. 5). Виявлено, що швидкість генерування СР мітохондріями адипоцитів ППЖТ позитивно корелює з ІМТ хворих на РШ ($r = 0,59$; $p < 0,05$) (рис. 6).

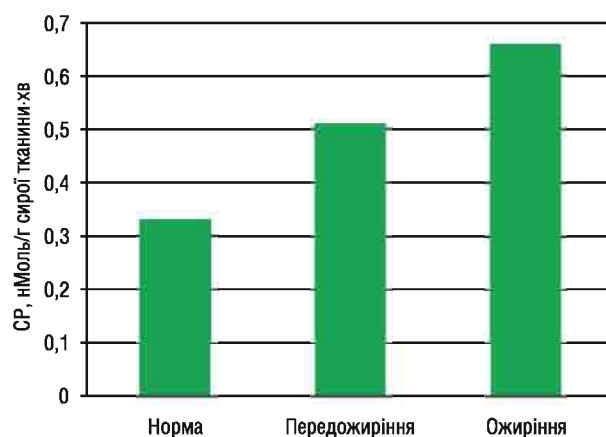


Рис. 4. Швидкість генерування СР мітохондріями адипоцитів ППЖТ хворих на РШ при ожирінні

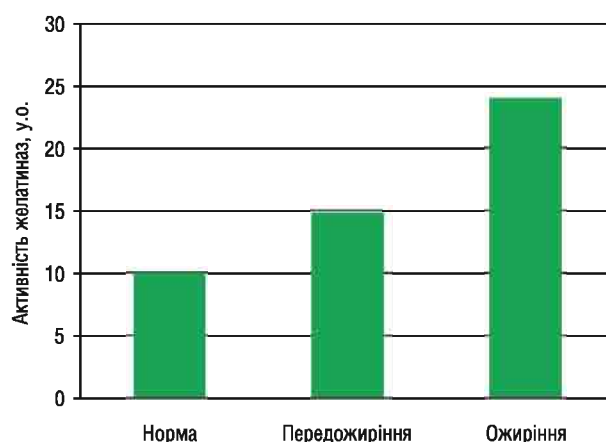


Рис. 5. Сумарна активність желатиназ (ММП-2 та -9) у ППЖТ хворих на РШ при ожирінні

Порушення редокс-балансу, спричинене мітохондріальною дисфункцією, є вагомим тригером формування дисфункції ЖТ. У свою чергу, дисфункціональна, редокс-розбалансована ППЖТ — пропухлинний чинник. З урахуванням цього досліджено показники редокс-стану ППЖТ у зв'язку з деякими пропухлинними факторами в пухлинній тканині та клініко-патологічними характеристика-

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ми хворих. Виявлено, що висока швидкість генерування СР та активність желатиназ у ППЖТ асоційовані з великою кількістю HIF-1 α -позитивних клітин, ПАМ та ПАА в пухлині, віддаленим метастазуванням РШ (таблиця). У групі хворих з наявними віддаленими метастазами (категорія М1), для яких характерні майже в 2 рази достовірно вищі показники швидкості генерування СР та сумарної активності желатиназ у ППЖТ, ніж в групі без віддалених метастазів (категорія М0), спостерігали більшу кількість HIF-1 α -позитивних клітин в 1,25 раза, ПАМ — в 1,4 раза, ПАА — в 2,1 раза ($p < 0,05$).

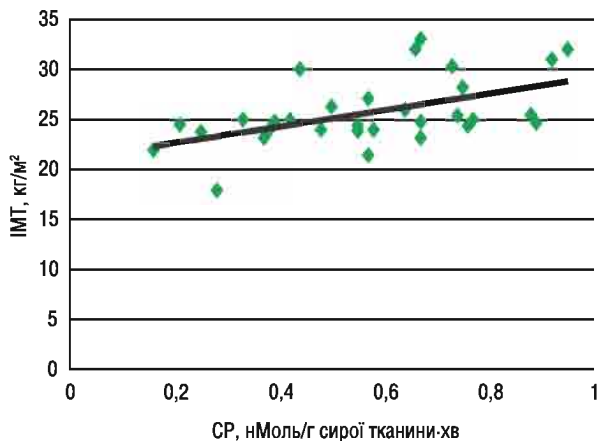


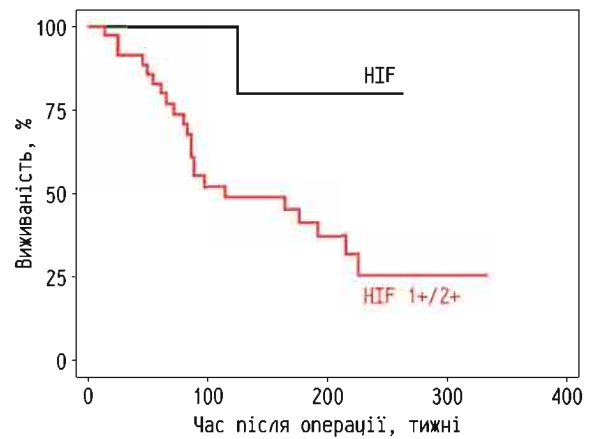
Рис. 6. Рівні генерування СР в ППЖТ та ІМТ у хворих на РШ

Таблиця
Швидкість генерування СР та активність желатиназ у ППЖТ, кількість HIF-1 α -позитивних клітин, ПАМ та ПАА в пухлині та віддалене метастазування РШ

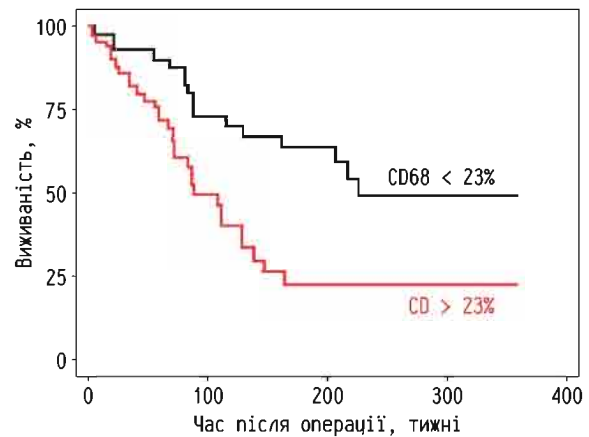
ППЖТ		Пухлина			Категорія М
СР, нМоль/г сирової тканини · хв	Желатинази (ММП-2, -9), у.о.	HIF-1 α , %	ПАМ, %	ПАА, %	
0,37 \pm 0,11	12,3 \pm 2,9	28,1 \pm 1,6	28,0 \pm 3,4	11,5 \pm 4,7	М0 (n = 24)
0,68 \pm 0,18*	23,7 \pm 4,5*	35,3 \pm 4,0*	39,3 \pm 4,0*	23,1 \pm 6,1*	М1 (n = 21)

* $p < 0,05$; n – кількість хворих.

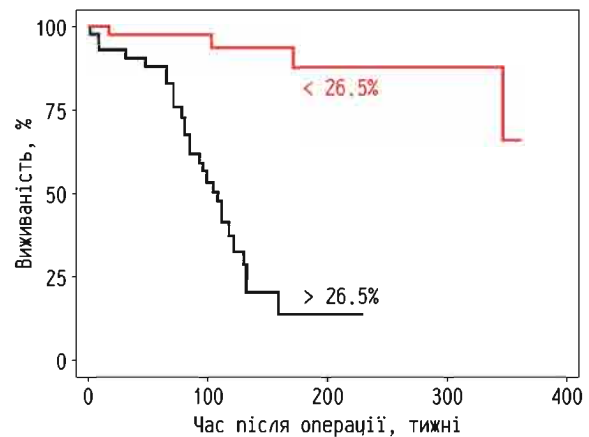
Таким чином, високі значення показників експресії HIF-1 α , кількості ПАМ та ПАА в пухлині асоційовані з дисфункціональним станом ППЖТ. При цьому важливо відмітити, що раніше на значному за обсягом клінічному матеріалі нами показано, що їхні високі значення також пов'язані з низькою виживаністю та поганим прогнозом у пацієнтів із РШ (рис. 7) [21–23]. Так, хворі на РШ з наявними HIF-1 α -позитивними клітинами в пухлині живуть достовірно менше та мають у 3,8 раза вищий ризик несприятливого перебігу захворювання ($\chi^2 = 3,8$; $p = 0,04$), ніж пацієнти, у пухлинах яких не виявлено HIF-1 α -позитивних клітин (рис. 7, а) [21]. Показано, що пацієнти із РШ, в пухлинах яких виявлено більше ніж 23,0% ПАМ, живуть достовірно менше та мають у 2,4 раза вищий



а



б



в

Рис. 7. Загальна виживаність хворих на РШ залежно від експресії HIF-1 α ($\chi^2 = 3,8$; $p = 0,04$) (а) [21], кількості CD68+ -клітин (ПАМ) ($\chi^2 = 2,4$; $p = 0,027$) (б) [22] та кількості Plin5+ -клітин (ПАА) ($\chi^2 = 6,3$; $p = 0,032$) (в) [23] у пухлині

ризик смерті ($\chi^2 = 2,4$; $p = 0,027$) порівняно з пацієнтами, в новоутвореннях яких було менше ніж 23,0% ПАМ (рис. 7, б) [22]. Тривалість життя хворих на РШ, у пухлинах яких виявлено більше ніж 26,5% ПАА, у 6,3 раза менша ($\chi^2 = 6,3$; $p = 0,032$) від тривалості життя пацієнтів, в пухлинах яких міститься менше ніж 26,5% ПАА (рис. 7, в) [23].

Тому ми вважаємо перспективним дослідження виживаності у зв'язку з низкою редокс-характеристик ППЖТ та асоційованих із ними показників у пухлинній тканині з метою визначення маркерів контролю перебігу РШ для хворих із зайвою масою тіла. Результати таких досліджень додадуть нову ланку до персоніфікованих підходів у лікуванні пацієнтів з онкологічними захворюваннями.

Таким чином, стосунки між пухлиною та прилеглою до неї ЖТ являють собою своєрідний симбіоз. Пухлина, що вже має змінений редокс-стан, пошкоджує мітохондрії адипоцитів та перепрограмує їх в ПАА, які характеризуються розбалансуванням редокс-статусу та пропухлинними властивостями: високими рівнями генерування СР, деструкції міжклітинного матриксу, секрецією пропухлинних адипокінів, продукцією ліпідів у міжклітинний простір. Такі перепрограмовані адипоцити, відповідно, впливають на пухлину, підвищуючи ступінь її агресивності та спричиняючи її ріст та розповсюдження. Розуміння редокс-механізмів симбіозу клітин пухлини й адипоцитів виявить нові мішені та прогностичні маркери для хворих на рак із надмірною масою тіла, що відкриє нові підходи до індивідуалізації протипухлинної терапії.

ВИСНОВКИ

1. Мітохондріальна дисфункція адипоцитів спричинює зміни редокс-стану ППЖТ при РШ та, як наслідок, відповідну активацію редоксзалежних факторів.

2. Дефекти в механізмі окисного фосфорилування, зростання швидкості генерування СР, рівнів окиснення гуаніну в ДНК, активності ММП в ППЖТ активують низку редоксзалежних факторів у пухлинні (HIF-1 α , ПАМ, ПАА). Дисфункціональна ЖТ є модифікатором мікрооточення РШ, що зумовлює його прогресування.

3. Дисбаланс редокс-стану дисфункціональної ЖТ асоційований із ожирінням, а ступінь його вираженості корелює із ІМТ пацієнтів.

3. Високі рівні генерування СР та активності желатиназ у ППЖТ є важливими чинниками прогресування пухлини, асоційовані з віддаленим метастазуванням та можуть мати прогностичне значення при лікуванні пацієнтів з РШ.

4. Розуміння редокс-механізмів симбіозу клітин пухлини й адипоцитів виявить нові мішені та прогностичні маркери для хворих на рак з надмірною масою тіла, що відкриє нові підходи до індивідуалізації протипухлинної терапії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Schwartz B, Yehuda-Shnaidman E. Putative role of adipose tissue in growth and metabolism of colon cancer cells. *Front Oncol* 2014; 4: 164.
2. Marsiglia L, Manti S, D'Angelo G, et al. Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. *Int J Mol Sci* 2015; 16 (1): 378–400.

3. Liu GS, Chan EC, Higuchi M, et al. Redox mechanisms in regulation of adipocyte differentiation: beyond a general stress response. *Cells* 2012; 1 (4): 976–93.

4. Nieman KM, Romero IL, van Houten B, et al. Adipose tissue and adipocytes support tumorigenesis and metastasis. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1831 (10): 1533–41.

5. Schwartz B, Yehuda-Shnaidman E. Putative role of adipose tissue in growth and metabolism of colon cancer cells. *Front Oncol* 2014; 26 (4): 164.

6. Kwan HY, Chao X, Su T, et al. Dietary lipids and adipocytes: potential therapeutic targets in cancers. *J Nutr Biochem* 2015; 26 (4): 303–11.

7. Unger R, Clark GO, Scherer PE, Orci L. Lipid homeostasis, lipotoxicity and the metabolic syndrome. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1801: 209–14.

8. Guh DP, Zhang W, Bansback N, et al. The incidence of comorbidities related to obesity and overweight: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Central Public Health* 2009; 9: 1–20.

9. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic diseases. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 85–97.

10. Weisberg SP, McCann D, Desai M, et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112: 1796–808.

11. Maury E, Ehala-Aleksejev K, Guiot Y, et al. Adipokines oversecreted by omental adipose tissue in human obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293: E656–E665.

12. Kanda H, Tateya S, Tamori Y, et al. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J Clin Invest* 2006; 116: 1494–505.

13. Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res* 2005; 96: 939–49.

14. da Costa RM, Fais RS, Dechandt CR, et al. Increased mitochondrial ROS generation mediates the loss of the anti-contractile effects of perivascular adipose tissue in high-fat diet obese mice. *Br J Pharmacol* 2016; 8. doi: 10.1111/bph.13687.

15. Pérez S, Taléns-Visconti R, Rius-Pérez S, et al. Redox signaling in the gastrointestinal tract. *Free Radic Biol Med* 2017; 104: 75–103.

16. BMI Classification. *Global Database on Body Mass Index*. World Health Organization, 2006; 27: 2012.

17. Burlaka AP, Ganusevich II, Golotiuk VV, et al. Superoxide- and NO-dependent mechanisms of antitumor and antimetastatic effect of L-arginine hydrochloride and coenzyme Q10. *Exp Oncol* 2016; 38 (1): 31–5.

18. Сядорик ЄП, Бурлака АП, Коваленко НГ. Вміст молекулярних маркерів модифікації гуаніну — 8-oxodGu і 8-oxoG, індукованих радикальними формами кисню, при хімічному канцерогенезі в молочних залозах і пухлинному процесі шлунково-кишкового тракту. *Доповіді Нац акад наук України* 2005; (12): 177–81.

19. De Clerk 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.

20. Cieplak P, Stronqin AY. Matrix metalloproteinases — From the cleavage data to the prediction tools and beyond. *Biochim Biophys Acta* 2017; 17: pii: S0167–4889(17)30064–2.

21. Осинський СП, Бубновська ЛМ, Осинський ДС та ін. Клінічне та прогностичне значення гіпоксія-асоційованих факторів пухлинного мікрооточення раку шлунка. *Онкологія* 2015; 17 (3): 162–8.

22. Ганусевич П, Гуменюк ЛД, Мамонтова ЛА та ін. Пухліноасоційовані макрофаги та вміст активних форм желатиназ у тканині раку шлунка: зв'язок з виживаністю хворих. *Онкологія* 2013; 15 (3): 14–9.

23. Ганусевич П, Гуменюк ЛД, Ковельська АВ, Мамонтова ЛА. Пухлинно-асоційовані адипоцити та індекс маси тіла: зв'язок з перебігом раку шлунка. *Матеріали XIII З'їзду онкологів та радіобіологів України* 26–28 травня 2016 р., Київ, с. 192.

THE REDOX STATUS OF ADIPOSE TISSUE: EFFECTS ON THE MICROENVIRONMENT AND PROGRESSION OF GASTRIC CANCER

A.P. Burlaka, I.I. Ganusevich, A.V. Vovk,
L.D. Gumenyuk, V.V. Goncharenko

Summary. Obesity is an important factor in the development and course of some types of cancer, particularly tumors of the gastrointestinal tract. Adipose tissue (AT) negatively affects the function of other tissues and organs and, thus, obesity aggravates the course of cancer. However, the mechanisms responsible for these interactions, are not quite clear yet today. **Aim:** to investigate the redox state of the adjacent to the tumor of AT (ATAT), its relationship with some factors of the microenvironment and metastasis of gastric cancer (GC). **Objects and methods:** we investigated 11 samples of normal AT (NAT) practically from healthy individuals (after liposuction); samples of the tumor, ATAT and AT at a distance of 3 cm from the tumor 45 patients with GC II–IV stages. The presence of obesity in patients with GC was determined by calculating and interpreting body mass index (BMI). Also electron paramagnetic resonance, gel zymography, immunohistochemical, biochemical, and statistical methods were used. **Results:** mitochondrial dysfunction of adipocytes causes changes in redox status of ATAT with GC, and, as a consequence, the respective activation of the redox-dependent factors. The speed of generating superoxide radicals (SR) in the mitochondria of adipocytes of ATAT is significantly higher (in almost 4 times) than in NAT. The level of oxidative-induced

DNA mutations and gelatinase activity correlate with the levels of generation CP mitochondria of adipocytes. Defects in the mechanism of oxidative phosphorylation activate several redox-sensitive factors in the tumor (hypoxia-inducible factor-1-alpha (HIF-1 α), tumor-associated macrophage, tumor-associated adipocytes). Dysfunctional AT is a modifier of microenvironment of GC that contributes to its progression. The redox state disbalance of dysfunctional AT is associated with obesity and the degree of its severity correlates with BMI of the patients. High levels of SR generation and gelatinase activity in ATAT are important factors in the progression of tumors associated with distant metastasis and may have prognostic value in the treatment of GC. **Conclusion:** understanding redox mechanisms of the symbiosis of the tumor cells and adipocytes can help to find new targets and prognostic markers for cancer patients who are overweight, that will provide new approaches to the individualization of anticancer therapy.

Key Words: gastric cancer, dysfunctional adipose tissue, obesity, superoxide radicals, matrix metalloproteinases, mitochondrial dysfunction.

Адреса для листування:

Ганусевич І.І.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології, онкології
і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України
E-mail: iganus2000@yahoo.com

Одержано: 18.05.2017