

І.І. Ганусевич
А.П. Бурлака
А.В. Вовк
А.Р. Скороход

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

Ключові слова:

пухлиноасоційовані адипоцити, супероксидні радикали, рак шлунка, загальна виживаність, метастазування, мінімальна залишкова хвороба.

ПУХЛИНОАСОЦІЙОВАНІ АДИПОЦИТИ, РЕДОКС-СТАН ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ ТА МІКРОМЕТАСТАЗИ ПРИ РАКУ ШЛУНКА

Відомо, що ожиріння може бути фактором ризику та несприятливого перебігу низки пухлин. Зокрема, рак шлунка (РШ), молочної залози, товстої кишки, яєчника розвивається в оточенні дисфункціональної жирової тканини (ЖТ), здатної впливати на пухлинне мікрооточення. З іншого боку, дисбаланс редокс-стану пухлини є чинником, що пошкоджує мітохондрії адипоцитів та перепрограмує їх в пухлиноасоційовані адипоцити (ПАА) із пропухлинними властивостями. ПАА є важливим джерелом адипокінів та енергії для пухлини, що сприяє її прогресії. Розуміння механізмів клітинного та метаболічного симбіозів ПАА з пухлинними клітинами є підґрунтям для нових терапевтичних та діагностичних підходів, зокрема за наявності ожиріння у хворих онкологічного профілю. Одним із них може стати індивідуалізація протипухлинної терапії хворих на мінімальну залишкову хворобу (МЗХ) із надмірною масою тіла з урахуванням впливу ПАА на перебіг мікрометастазів. **Мета:** виявити взаємозв'язки між кількістю ПАА та клініко-патологічними характеристиками, показниками редокс-стану прилеглої до пухлини жирової тканини (ППЖТ), кількістю дисемінованих пухлинних клітин (ДПК) в кістковому мозку (КМ) і тривалістю життя хворих на РШ з надмірною масою тіла. **Методи:** імуногісто- та імуноцитохімічні, зимографії, ЕПР-спектрометрії, статистичні (*t*-критерій Стьюдента, кореляційний аналіз за Спірманом, аналіз виживаності за Капланом — Мейєром). **Результати:** виявлено достовірну кореляцію між кількістю ПАА в пухлині та індексом маси тіла (ІМТ) хворих на РШ ($\rho = 0,41$; $p = 0,032$). Вміст ПАА зростає зі збільшенням розмірів пухлини і у хворих категорії рТ4 у 1,3 рази ($p < 0,05$) вищий за показники в пухлинах хворих категорії рТ1. Як при регіонарному, так і віддаленому метастазуванні в пухлинах виявлено достовірно більше ПАА, ніж за відсутності метастазів. На противагу цьому у пацієнтів з віддаленими метастазами середнє значення ІМТ достовірно нижче, ніж у пацієнтів без віддалених метастазів, і хворі з ожирінням живуть достовірно довше, ніж хворі з нормальною масою тіла. Висока швидкість генерування супероксидних радикалів (СР) та активність желатиназ у ППЖТ також асоційовані з віддаленим метастазуванням РШ. Для хворих категорії М1 характерні на 83,0 та 64,0% відповідно вищі показники швидкості СР та сумарної активності желатиназ у ППЖТ і на 30% більша кількість ПАА в пухлині, ніж для хворих категорії М0. Для хворих без клінічно виявлених метастазів (категорії М0) характерна достовірно більша кількість ПАА при наявності ДПК у КМ порівняно з їх відсутністю. Пацієнти з меншою, ніж 26,5%, кількістю ПАА у пухлині живуть достовірно довше та мають у 2,9 рази нижчий ризик несприятливого перебігу захворювання у порівнянні з пацієнтами, в пухлинах яких кількість ПАА $> 26,5\%$. Для групи хворих з наявними ДПК в КМ не виявлено достовірної залежності виживаності від кількості ПАА ($p = 0,6203$), але відмічено таку залежність для хворих без мікрометастазів ($p = 0,005$). **Висновки:** редокс-стан ЖТ пов'язаний з кількістю ПАА в пухлині, тобто є модифікатором її пропухлинного мікрооточення. Кількість ПАА пов'язана з ростом пухлини, її регіонарним і віддаленим метастазуванням, осіданням ДПК у місцях віддаленого метастазування та може бути використана у контролі за утворенням мікрометастазів та перебігом МЗХ у хворих на РШ з надмірною масою тіла.

Відомо, що у світі неухильно зростає частка людей похилого віку. Крім того, похилий вік пацієнтів, перш за все у розвинених країнах, супроводжується появою

зайвої маси тіла. Однією з найпоширеніших патологій, пов'язаних з похилим віком та ожирінням, є захворювання на злоякісні пухлини [1]. Так, надмірна маса тіла

і ожиріння є причиною 14,0% всіх випадків смерті від онкологічних захворювань серед чоловіків, 20,0% — серед жінок. На сьогодні дослідження в рамках проблеми «ожиріння та рак» проводяться в двох напрямках: вивчається вплив жирової тканини (ЖТ) на ризик розвитку раку та перебіг пухлинної прогресії [1, 3, 4].

Низка пухлин, такі як рак шлунка (РШ), молочної залози, товстої кишки, яєчника, розвиваються в місцях анатомічного накопичення ЖТ [1]. Останні дослідження показали, що аномалії ліпідного обміну беруть участь не лише у патогенезі метаболічного синдрому, а й різних видів раку [3, 4]. Дисфункції адипоцитів спричиняють численні патологічні зміни. Наприклад, дисфункціональними адипоцитами виробляється надлишок вільних жирних кислот, які окиснюються і чинять токсичний вплив — пошкоджують клітинні мембрани сусідніх клітин, ендоплазматичний ретикулум та мітохондрії [5], що призводить до порушення окисно-відновного балансу та окисного стресу. З іншого боку, токсичні окиснені жирні кислоти в міжклітинному просторі стимулюють реакції запалення, сприяють накопиченню макрофагів та нейтрофілів у ЖТ. У відповідь включаються реакції, спрямовані на послаблення токсичності — вільні жирні кислоти етерифікуються до інертного триацилгліцерину. В результаті енергетичного дисбалансу відбувається надмірне накопичення триацилгліцеринів, гіпертрофія адипоцитів і в результаті — ожиріння [6]. Супероксидні радикали (СР), які генеруються адипоцитами, та наявність вільних ліпідів, продукованих адипоцитами в пухлинне мікрооточення, сприяють адгезії, міграції та інвазії пухлинних клітин (ПК) і підтримують прогресування пухлини та її неконтрольований ріст [7, 8]. Змінений редокс-стан пухлини є чинником, що пошкоджує мітохондрії адипоцитів та перепрограмує їх в пухлиноасоційовані адипоцити (ПАА), які характеризуються низкою пропухлинних властивостей: високими рівнями генерування СР та активності матриксних металопротеїназ (ММП), секрецією про-

пухлинних адипокінів, продукцією вільних жирних кислот у міжклітинний простір. Такі перепрограмовані адипоцити, відповідно, впливають на пухлину, підвищуючи ступінь її агресивності та сприяючи її росту та розповсюдженню (рис. 1) [2].

У зв'язку з необхідністю підтримувати високі темпи проліферації синтез білка і ДНК в ПК прискорений і відбувається з великими енерговитратами. Пухлини, що ростуть в оточенні ЖТ, є залежними від мітохондріального β -окиснення жирних кислот, необхідного для продукції аденозинтрифосфату. Тому накопичення ліпідів адипоцитами в пухлинному мікрооточенні становить енергетичну основу пухлинної прогресії [3, 9].

Виходячи з того, що адипоцити є важливим джерелом адипокінів та енергії для пухлини, вивчення механізмів клітинного та метаболічного симбіозу адипоцитів та ПК відкриває нові терапевтичні та діагностичні можливості. Зокрема, відомо, що метастазування є основною причиною смерті хворих на рак. ПК здійснюють свій метастатичний потенціал після набуття ними сприятливих характеристик, що дозволяють їм дисемінувати — відриватися від первинної пухлини, циркулювати в судинному руслі та досягати вторинних сайтів, екстравазувати та стабілізуватися в метастатичний центр. Зазвичай такі ПК знаходяться в стані дрімоти, їх властивості в комплексі з властивостями навколишнього середовища можуть бути тригером дрімотного стану та виходу з нього [1, 9]. Одним із таких факторів мікрооточення як первинної пухлини, так і сайтів віддаленого метастазування може бути ЖТ, зокрема ПАА.

З огляду на вищезазначене ми взяли за мету виявити взаємозв'язки між кількістю ПАА та клініко-патологічними характеристиками, показниками редокс-стану прилеглої до пухлини жирової тканини (ППЖТ), кількістю дисемінованих пухлинних клітин (ДПК) в кістковому мозку (КМ) і тривалістю життя хворих на РШ з надмірною масою тіла.

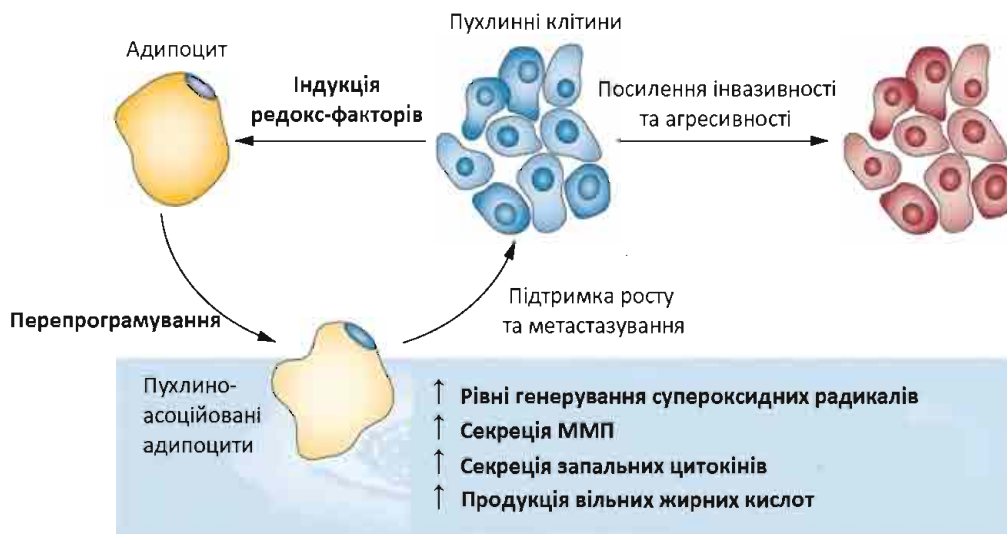


Рис. 1. Метаболічний симбіоз пухлини та адипоцитів

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 1

Дослідження виконано з використанням клінічного матеріалу 236 хворих на РШ (162 чоловіки, 74 жінки) з таким розподілом за стадіями: 68 — I, 54 — II, 63 — III та 51 — IV. Серед пухлин за гістологічною структурою переважають аденокарциноми, за стадіями — II та III; за категорією N — дещо більше хворих з регіонарними метастазами (N1–2), за категорією M — 80,0% хворих без віддалених метастазів (M0), 20,0% — з їх наявністю (M1) (рис. 2).

Хворі, які лікувалися у Київському міському клінічному онкологічному центрі МОЗ України, не отримували передопераційної хіміотерапії; в дослідженні виживаності враховувалися дані щодо тих із них, які не отримували також і післяопераційного лікування. Пацієнти були поінформовані про обстеження і дали згоду на участь у його проведенні.

ІМТ (кг/м²) розраховували за формулою [10]:

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

де: m — маса тіла, кг; h — зріст, м.

Інтерпретацію показників ІМТ хворих на РШ щодо наявності ожиріння проводили відповідно до стандартних рекомендацій ВООЗ (табл. 1).

Використані методи: імуногісто- та імуноцитохімічний, статистичні.

ПАА характеризуються наявністю білка поверхні малої ліпідної краплі — Plin5. Кількість ПАА ви-

Інтерпретація показників ІМТ
(відповідно до рекомендацій ВООЗ)

ІМТ, кг/м ²	Співвідношення маси тіла та зросту людини
< 16	Дефіцит маси тіла
16–18,4	Недостатня маса тіла
18,5–24,9	Нормальна маса тіла
25–30	Зайва маса тіла (передожиріння)
30–35	Ожиріння I ступеня
35–40	Ожиріння II ступеня
> 40	Ожиріння III ступеня (морбідне)

значали за допомогою імуногістохімічного виявлення Plin5⁺-клітин на парафінових зрізах тканини РШ з використанням специфічних поліклональних антитіл кроля (1:200) (Termoscientific, США). Візуалізація за допомогою полімер-пероксидазного методу (EnVision+ /HRP та 3,3-diaminobenzidin; DakoCytomation, Данія). В якості негативного контролю використовували PBS як заміну первинних антитіл. Позитивні клітини підраховували в 10 полях зору на кожному зрізі при збільшенні у 400 разів та виражали у відсотках.

Наявність цитокератинпозитивних клітин (panCK⁺ клітин) серед мононуклеарів КМ на фіксованих в ацетоні цитоспінових препаратах виявляли методом АРААР (alkalinephosphatase-anti-alkalinephosphatase; система візуалізації EnVisionTMG/2 System/APRabbit/Mouse (PermanentRed; DakoCytomation, Данія) з подальшим забарвленням розчином метиленового зеле-

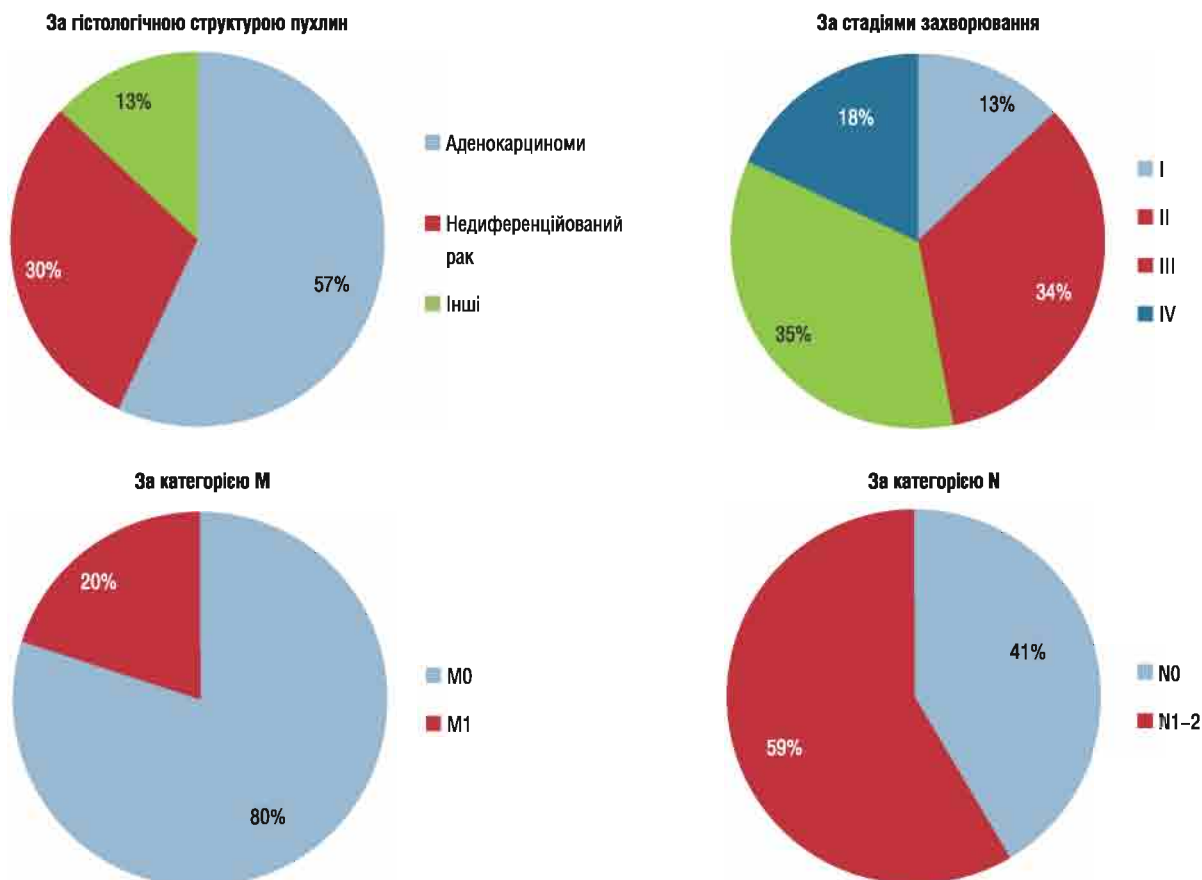


Рис. 2. Розподіл хворих на РШ

ного (Methyl Green histological staining reagent, ready-to-use, DakoCytomation, Данія) [11]. Як первинні антитіла використовували МкАт миші проти panCK (clone AE1/AE3, DakoCytomation, Данія). У якості негативного контролю використовували неспецифічний IgG1 миші (MOPC-21, Sigma, США). Для визначення кількості panCK⁺ клітин у КМ цитоспінові препарати досліджували візуально у світловому мікроскопі (збільшення $\times 1000$). Кількість ПК підраховували, виходячи із загальної кількості мононуклеарів на всіх отриманих цитоспінових препаратах для кожного зразка, і виражали на 10^6 мононуклеарних клітин. При наявності хоча б однієї ПК на 10^6 мононуклеарів КМ хворого вважався «позитивним».

В отриманих зразках ЖТ визначали активність ММП-2 та -9 (або желатиназ) методом зимографії в поліакриламідному гелі (із додаванням желатину в якості субстрата) на основі SDS-електрофорезу білків [12]. 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 (ум. од.) прийнято активність 1 мкг ферменту в 1 г вихідного контрольного зразка. Результати оцінювали за допомогою стандартної програми TotalLab 1.01.

Рівні генерування СР вимірювали методом електронно-парамагнітного резонансу (ЕПР-спектрометрії) за технологією SpinTraps (уловлювача радикалів) [13]. Із ЖТ готували зразки за допомогою спеціальної прес-форми за умов низькотемпературної стабілізації. Спектри ЕПР реєстрували при $T = 77$ °К. Одночасно зі спектрами зразків знімали спектр незалежного стандарту інтенсивності, в якості якого використано спеціально орієнтований монокристал рубіну з відомою кількістю парамагнітних центрів. Інтенсивність стандарту прийнято за 1 відн. од. вимірювань.

Статистичну обробку даних проводили з використанням методів варіаційної статистики із застосуванням програм STATISTICA 8.0 та Prism 4.0. Вірогідність відмінностей між показниками оцінювали за t-критерієм Стюдента. Кореляційний аналіз проводили з використанням коефіцієнта кореляції Спірмана (ρ). Загальну виживаність (ЗВ) хворих аналізували за методом Каплана — Мейера, вірогідність розбіжностей між кривими виживаності визначали за допомогою log-rank тесту. Статистична значущість прийнята при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Згідно з класифікацією ВООЗ хворих розділили на групи за ІМТ (< 25 кг/м² (норма) та ≥ 25 кг/м² (ожиріння)) та за віком (≤ 60 років (середній вік) і > 60 років (похилий вік)) (табл. 2).

Таблиця 2

Розподіл хворих на РШ за віком та ІМТ

Показники	Вік, років		Усього	
	≤ 60	> 60		
ІМТ, кг/м ²	< 25	51	75	126
	≥ 25	51	59	110
Загалом		102	134	236

Проведено аналіз клініко-патологічних показників хворих на РШ у зв'язку з ІМТ. Не виявлено значущих та достовірних залежностей між показниками ІМТ пацієнтів та статтю, віком, розміром пухлини, наявністю регіонарних метастазів (категорія pN), стадією захворювання (категорія pTNM) та ступенем диференціації. Відмічено, що у пацієнтів з віддаленими метастазами (M1) середнє значення ІМТ на 2,5 одиниці нижче, ніж у пацієнтів без віддалених метастазів (M0), хоча можна було очікувати на протилежний зв'язок (рис. 3). Але виявлена різниця недостовірна ($p > 0,05$).

Отримано неочікуваний результат і щодо виживаності залежно від ІМТ. Показано, що хворі на РШ з ожирінням живуть достовірно довше ($p = 0,0109$), ніж хворі з нормальною масою тіла, та мають у 1,9 раза нижчий ризик смерті (рис. 4). За умов нормальної маси тіла вік не впливає на перебіг захворювання: достовірної різниці у ЗВ між хворими середнього та похилого віку не спостерігали ($p = 0,5656$) (рис. 5). Але за наявності ожиріння вік має значення: хворі похилого віку живуть достовірно менше, ніж середнього ($p = 0,0428$), та мають у 2,1 раза вищий ризик смерті (рис. 6).

Дослідження попередніх десятиліть демонструють негативний вплив ожиріння на перебіг низки онкологічних захворювань. Однак у деяких роботах наведено протилежні результати щодо зв'язків між ожирінням та перебігом РШ. У дослідженнях 2005—2010 рр. проаналізовано 211 випадків РШ II та III стадії у пацієнтів з високим (≥ 23 кг/м²) та низьким ІМТ (< 23 кг/м²). ЗВ пацієнтів у групі з високим ІМТ була значно вищою: смертність у групі з низьким ІМТ становила 27,0%, з високим ІМТ — 12,6% [14]. Схожі дослідження проведено групою вчених в Католицькому університеті (Сеул, Корея). Хворих на РШ розподілено на групи з низьким, нормальним та висо-

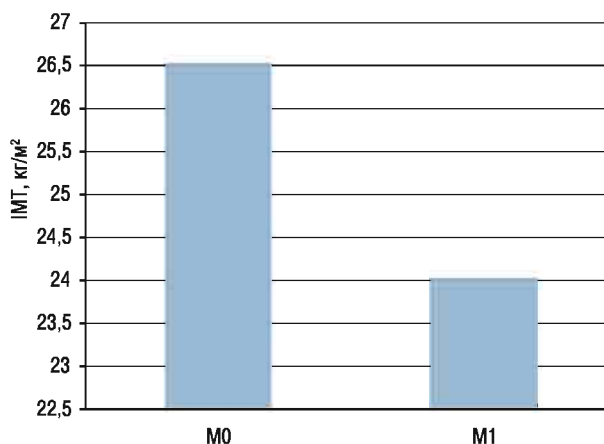


Рис. 3. ІМТ та віддалене метастазування РШ ($p > 0,05$)

ким ІМТ. Вживаність пацієнтів з ожирінням через рік після операції була значно вищою, ніж у пацієнтів з нормальною або недостатньою масою тіла [15]. Аналогічні результати отримані дослідниками, які проаналізували 153 випадки РШ: 5-річна вживаність у групах з низьким, нормальним та високим ІМТ становила 43,5; 50,5 та 65,7% відповідно [16]. Водночас достовірного впливу маси тіла на ЗВ хворих на рак підшлункової залози не виявили [17].

Таким чином, результати щодо впливу ожиріння на перебіг пухлинної прогресії не є однозначними. Відомі дані, які свідчать, що вплив ожиріння на перебіг раку зумовлений ступенем розвитку пухлини. Проаналізовано показники 5-річної вживаності хворих на РШ, яких було розділено на групи: ранні стадії захворювання та високий ІМТ, пізні стадії та високий ІМТ, ранні стадії та низький ІМТ, пізні стадії та низький ІМТ. Показано, що вживаність становила 90,0; 83,3; 90,0 та 42,0% відповідно, різниця була статистично значущою. Тобто на ранніх стадіях РШ маса тіла не впливає на перебіг захворювання, тоді як на термінальних стадіях пацієнти з надмірною масою тіла живуть довше, ніж пацієнти з недостатньою [18].

Таким чином, отримані нами результати щодо позитивного впливу зайвої маси тіла на перебіг РШ співвідносяться з даними літератури та підтверджують припущення, що на пухлинну прогресію впливає не надмірна маса тіла як така, а прилегла до пухлини ЖТ — залежно від ступеня її дисфункціональності та розвитку симбіотичних зв'язків з пухлиною [1, 6].

Одним із факторів впливу ЖТ на пухлину є ПАА, які утворюють своєрідний симбіоз із ПК (див. рис. 1). Нами досліджено вміст ПАА у пухлинній тканині у зв'язку з клініко-патологічними показниками, наявністю ДПК у КМ та вживаністю хворих на РШ.

Кількість ПАА в пухлинній тканині шлунка визначали за експресією білка Plin5 (рис. 7). ПАА виявлено в пухлинах всіх хворих на РШ, їх кількість варіювала в межах від 5,0 до 51,0%, медіана становила 26,5%.

Виявлено достовірну кореляцію між кількістю ПАА в пухлині та ІМТ хворих на РШ ($\rho = 0,41$; $p = 0,032$) (рис. 8).

Показано, що вміст ПАА зростає зі збільшенням розмірів пухлини і у хворих категорії pT4 є у 1,3 раза достовірно вищим за показники в пухлинах хворих категорії pT1 (рис. 9).

Як при регіонарному, так і при віддаленому метастазуванні в пухлинах виявлено достовірно більше ПАА, ніж за відсутності метастазів (рис. 10).

Таким чином, прогресування РШ (збільшення розмірів пухлини, її регіонарне та віддалене метастазування) пов'язане зі зростанням кількості ПАА в пухлинній тканині. Отримані результати в сукупності з даними літератури дозволяють припустити, що перепрограмовані адипоцити (ПАА) завдяки набутим пропухлинним характеристикам сприяють інвазивному росту та метастазуванню пухлини.

Ми дослідили показники вмісту ПАА у зв'язку з деякими показниками редокс-стану ППЖТ

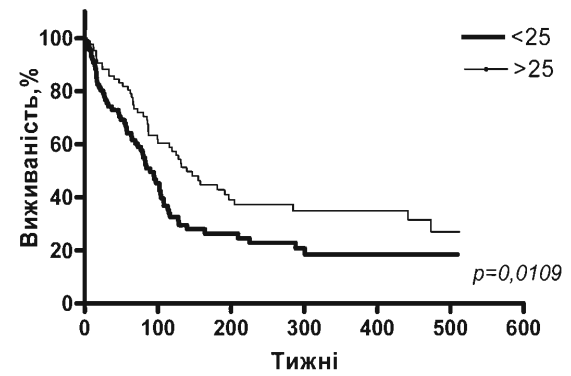


Рис. 4. ЗВ та ІМТ (кг/м²) хворих на РШ (log-rank test: $p = 0,0109$, $\chi^2 = 7,65$; HR = 1,9)

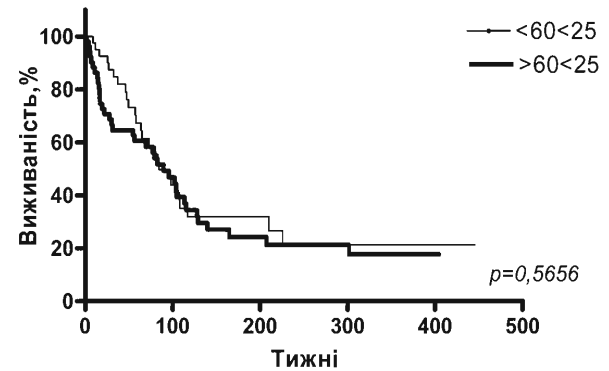


Рис. 5. ЗВ та вік (років) хворих на РШ з нормальною масою тіла (ІМТ, кг/м²) ($p = 0,5656$)

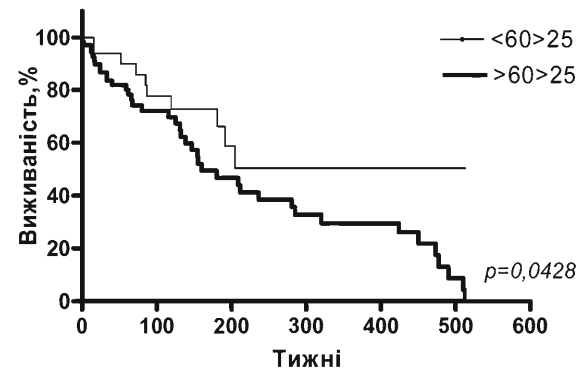


Рис. 6. ЗВ та вік (років) хворих на РШ з ожирінням (ІМТ, кг/м²) ($p = 0,0428$, $\chi^2 = 6,97$; HR = 2,1)

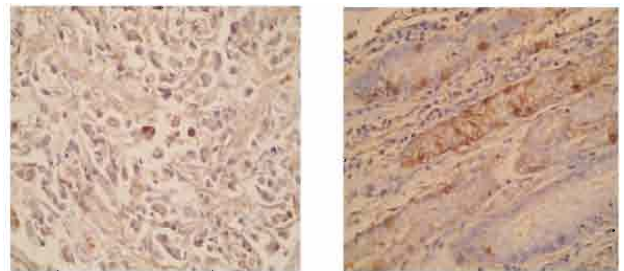


Рис. 7. Експресія білка Plin5 в РШ

(рис. 11). Виявлено, що велика кількість ПАА в пухлині асоційована, з одного боку, з високою швидкістю генерування СР та активністю желатиназ в ППЖТ, а з іншого — з віддаленим метастазуванням РШ. Для хворих категорії M1 характерні вищі показники швидкості СР (на 83,0%), сумарної ак-

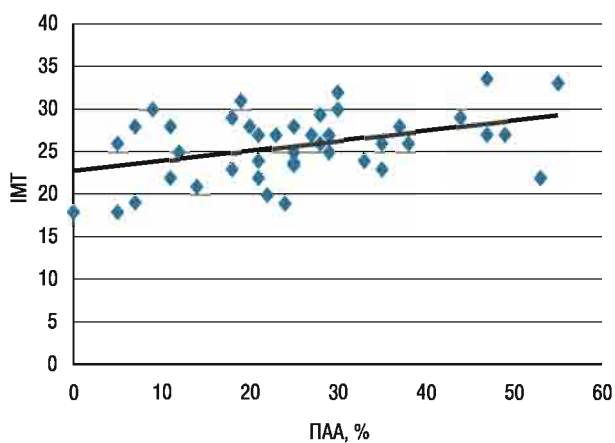


Рис. 8. Кількість ПАА в пухлині та ІМТ хворих на РШ

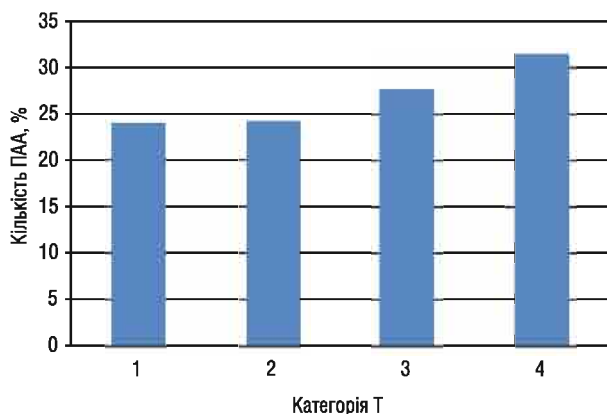


Рис. 9. Кількість ПАА у тканині РШ та розміри пухлини ($p < 0,05$ для рТ1–рТ4)

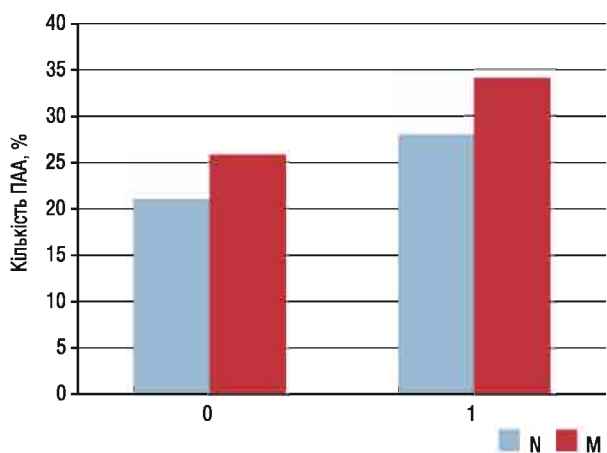


Рис. 10. Кількість ПАА в пухлині та метастазування РШ ($p < 0,05$)

тивності желатиназ (на 64,0%), а також більша кількість ПАА (на 30,0%), ніж для хворих категорії М0.

Очевидно, дисфункціональна ЖТ, однією з ознак якої є розбалансованість редокс-стану, бере участь у перепрограмуванні адипоцитів у ПАА і, таким чином, у формуванні мікрооточення пухлини, сприятливого для її розповсюдження. Отримані результати дають підставу розглядати наведені показники як перспективні маркери перебігу онкологічних захворювань у пацієнтів із надмірною масою тіла. Виходячи з цього,

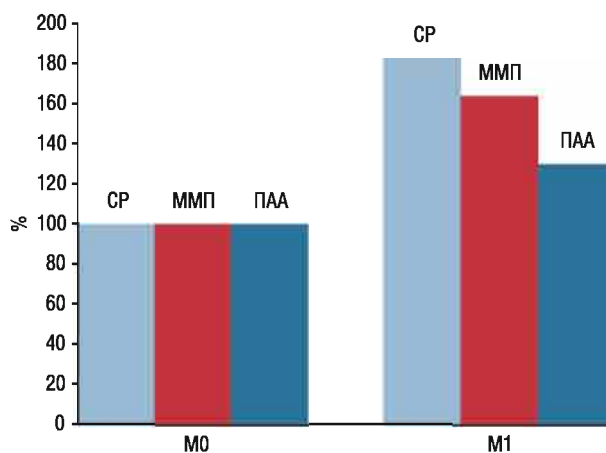


Рис. 11. Кількість ПАА в пухлині, швидкість генерування СР і сумарна активність желатиназ (ММП-2 і -9) у ППЖТ у хворих на РШ категорії М1 (у відсотках до показників хворих категорії М0)

видається доцільним дослідити зв'язок між ПАА, дисемінацією ПК та виживаністю хворих на РШ, зокрема за відсутності та наявності мікрометастазів.

Показано, що за наявності ДПК (ДПК⁺) у КМ кількість ПАА у пухлинах всіх хворих на РШ у 1,2 раза вища, ніж за їх відсутності (ДПК⁻) ($p < 0,05$). Для хворих категорії М0 також характерна така залежність (табл. 3).

Таблиця 3

Кількість ПАА (%) в пухлинній тканині за відсутності та наявності ДПК у КМ

	ДПК ⁻	ДПК ⁺
Усі хворі	26,0 ± 1,2	30,6 ± 1,8*
Хворі категорії М0	25,5 ± 0,8	29,3 ± 1,5*

* $p < 0,05$.

Показано, що пацієнти з меншою, ніж 26,5%, кількістю ПАА в пухлині живуть достовірно довше та мають у 2,9 раза нижчий ризик несприятливого перебігу захворювання у порівнянні з пацієнтами, в пухлинах яких кількість ПАА була вищою за 26,5% (рис. 12). Для групи хворих з ДПК⁺ не виявлено достовірної залежності виживаності від кількості ПАА ($p = 0,6203$), але відмічено таку залежність для хворих без мікрометастазів ($p = 0,005$) (рис. 13, 14). Таким чином, вірогідно, ПАА не впливають на перебіг мінімальної залишкової хвороби (МЗХ), але пов'язані з дисемінацією ПК, тобто з формуванням МЗХ.

Наразі існує багато публікацій щодо взаємовпливу адипоцитів та ПК у зв'язку з їх метастатичним потенціалом, але більшість досліджень виконані на клітинах раку молочної залози (РМЗ) і не стосуються проблем МЗХ. Навіть короточасні взаємодії між клітинами РМЗ людини та зрілими адипоцитами *in vitro* можуть збільшувати агресивність ПК. Коінкубація клітин РМЗ зі зрілими адипоцитами призводила до збільшення кількості молекул, секретованих адипоцитами, та стимулювала інвазивність і підвищувала метастатичний потенціал ПК, що проявлялося навіть через деякий час після припинення взаємодії. Тому автори пропонують використовувати адипоцити в якості перспективних мішеней у профілактиці метастазування РМЗ, що може бути допоміжним аспектом в протипухлинній терапії хворих

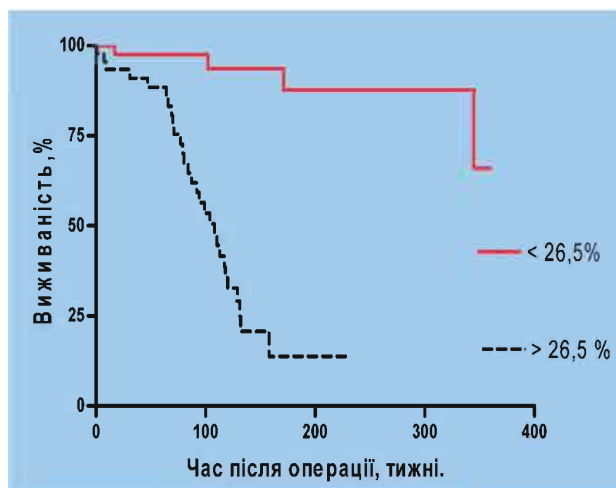


Рис. 12. ЗВ хворих на РШ (категорія М0) та кількість ПАА в пухлині (log-rank test: $p = 0,007$, $\chi^2 = 9,28$; HR = 2,9)

із надмірною масою тіла [19]. У численних дослідженнях на клінічному матеріалі *in vivo* показано, що адипоцити сприяють метастазуванню РМЗ [20–22]. Таким чином, наші результати, отримані в клінічних дослідженнях з вивчення РШ, загалом співвідносяться з результатами зазначених авторів, але, крім того, на підставі виявлених зв'язків між ПАА та ДПК демонструють нові підходи до прогнозування формування та перебігу МЗХ у пацієнтів з ожирінням.

ВИСНОВКИ

1. Показано, що хворі на РШ з ожирінням живуть достовірно довше ($p = 0,0109$), ніж хворі з нормальною масою тіла, та мають у 1,9 раза нижчий ризик смерті; за умов нормальної маси тіла вік не впливає на перебіг захворювання; за наявності ожиріння хворі похилого віку живуть достовірно менше, ніж хворі середнього віку ($p = 0,0428$), та мають у 2,1 раза вищий ризик смерті.

2. Виявлено пряму позитивну кореляцію між кількістю ПАА в пухлині та ІМТ хворих на РШ ($\rho = 0,41$; $p = 0,032$). Вміст ПАА зростає зі збільшенням розмірів пухлини: у хворих категорії рТ4 достовірно вище, ніж у хворих категорії рТ1.

3. Як при регіонарному, так і при віддаленому метастазуванні в пухлинах виявлено достовірно більше ПАА, ніж за відсутності метастазів. Велика кількість ПАА в пухлині асоційована, з одного боку, з високою швидкістю генерування СР та активністю желатиназ у ППЖТ, а з іншого — з віддаленим метастазуванням РШ.

4. Велика кількість ПАА для всіх хворих і хворих категорії М0 асоційована з наявністю ДПК у КМ ($p < 0,05$). Як для всіх пацієнтів категорії М0, так і для групи хворих без мікрометастазів у КМ виявлено достовірну залежність виживаності від кількості ПАА у пухлині. Показники кількості ПАА в пухлині є фактором, який пов'язаний з осіданням ДПК у місцях віддаленого метастазування, що можуть бути використані в контролі за утворенням мікрометастазів при прогнозуванні перебігу МЗХ у хворих на РШ з надмірною масою тіла.

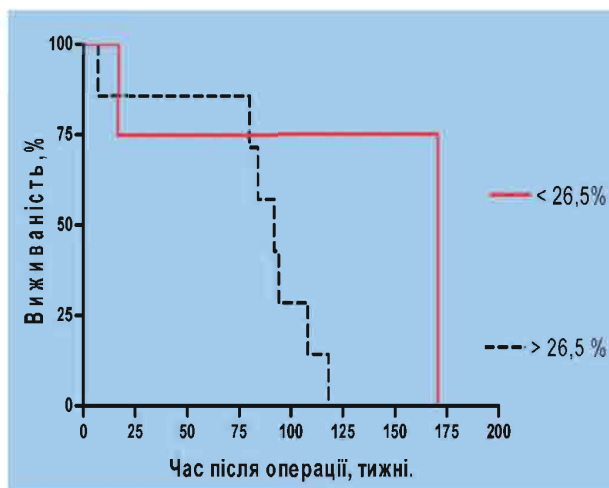


Рис. 13. ЗВ хворих на РШ (категорія М0 ДПК+) та кількість ПАА у пухлині ($p = 0,6203$)

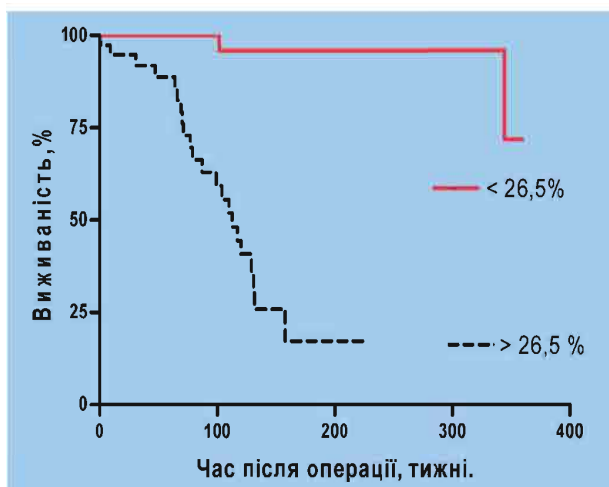


Рис. 14. ЗВ хворих на РШ (категорія М0 ДПК-) та кількість ПАА в пухлині (log-rank test: $p = 0,005$, $\chi^2 = 8,98$; HR = 3,3)

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Nieman KM, Romero IL, Van Houten B, Lengyel E. Adipose tissue and adipocytes support tumorigenesis and metastasis. *Biochim Biophys Acta* 2013; **1831** (10): 1533–41.
- Park J, Morley TS, Kim M, *et al.* Obesity and cancer — mechanisms underlying tumour progression and recurrence. *Nat Rev Endocrinol* 2014; **10**: 455–65.
- Alexandre L, Long E, Beales IL. Pathophysiological mechanisms linking obesity and esophageal adenocarcinoma. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2014; **5** (4): 534–49.
- Reaves DK, Ginsburg E, Bang JJ, *et al.* Persistent organic pollutants & obesity: potential mechanisms for breast cancer promotion. *Endocr Relat Cancer* 2015; **22** (2): 69–86.
- Unger R, Clark GO, Scherer PE, Orci L. Lipid homeostasis, lipotoxicity and the metabolic syndrome. *Biochim Biophys Acta* 2010; **1801**: 209–14.
- 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.
- Burlaka AP, Sidorik YeP. Radical forms of oxygen and nitric oxide in the tumor process. K: Naukova Dumka, 2006. 227 c.
- Shabalina IG, Vrbacký M, Pecinová A, *et al.* ROS production in brown adipose tissue mitochondria: the question of UCP1-dependence. *Biochim Biophys Acta* 2014; **1837** (12): 2017–30.
- Goossens GH, Blaak EE. Adipose tissue dysfunction and impaired metabolic health in human obesity: a matter of oxygen. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2015; **6** (55): 1–5.

10. BMI Classification. Global Database on Body Mass Index. World Health Organization 2006; 27: 2012.
11. Kakeji Y, Maehara Y, Shibahara K, *et al.* Clinical significance of micrometastasis in bone marrow of patients with gastric cancer and its relation to angiogenesis. *Gastr Cancer* 1999; 2: 46–51.
12. De Clerck 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.
13. Burlaka AP, Sidorik EP, Ganusevich II, *et al.* High formation of superoxide anion and nitric oxide, and matrix metalloproteinases activity in vascular wall of rectal carcinoma vessels. *Exp Oncol* 2006; 28: 323–5.
14. Jun DH, Kim BJ, Park JH, *et al.* Preoperative body mass index may determine the prognosis of advanced gastric cancer. *Nutr Cancer* 2016; 68 (8): 1295–300.
15. Lee HH, Park JM, Song KY, *et al.* Survival impact of postoperative body mass index in gastric cancer patients undergoing gastrectomy. *Eur J Cancer* 2016; 52: 129–37.
16. Zhang L, Xu A, Han W, *et al.* Effect of body mass index on postoperative outcomes in patients with gastric cancer. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi* 2016; 19 (3): 296–9.
17. Jiang QL, Wang CF, Tian YT, *et al.* Body mass index does not affect the survival of pancreatic cancer patients. *World J Gastroenterol* 2017; 23 (34): 6287–93.
18. Matsunaga T, Saito H, Osaki T, *et al.* Use of body mass index to predict the prognosis of patients with remnant gastric cancer. *Yonago Acta Medica* 2017; 60: 126–32.
19. Wang C, Gao C, Meng K, *et al.* Human adipocytes stimulate invasion of breast cancer MCF-7 cells by secreting IGFBP-2. *PLoS ONE* 2015; 10 (3): 1–17.
20. Kamat P, Schweizer R, Kaenel P, *et al.* Human adipose-derived mesenchymal stromal cells may promote breast cancer progression and metastatic spread. *Plast Reconstr Surg* 2015; 136: 76–84.
21. Lee JO, Kim N, Lee HJ, *et al.* Resistin, a fat-derived secretory factor, promotes metastasis of MDA-MB-231 human breast cancer cells through ERM activation. *Sci Rep* 2016; 6: 18923.
22. Strong AL, Ohlstein JF, Biagas BA, *et al.* Leptin produced by obese adipose stromal/stem cells enhances proliferation and metastasis of estrogen receptor positive breast cancers. *Breast Cancer Res* 2015; 17: 112.

TUMOR-ASSOCIATED ADIPOCYTES, REDOX STATE OF ADIPOSE TISSUE AND MICROMETASTASIS IN GASTRIC CANCER PATIENTS

I.I. Ganusevych, A.P. Burlaka,
A.V. Vovk, A.R. Skorokhod

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine,
Kyiv, Ukraine

Summary. It is well known that a number of tumors (such as gastric, breast, rectal, ovarian cancers etc.) develop in places of anatomical accumulation of adipose tissue (AT). The modified redox state of the tumor is a factor that damages the mitochondria of adipocytes and reprograms them into tumor-associated adipocytes (TAAs) that are characterized by pro-oncogenic properties. TAAs are an important source of adipokines and energy supply for the tumor, so studying the mechanisms of cellular and metabolic symbiosis of adipocytes and tumor cells opens up a new therapeutic and diagnostic possibilities. In particular, they include prediction of the course of micrometastasis taking into account the amount of TAAs, which will allow to develop an individualized antitumor therapy for patients with a minimal

residual disease (MRD) and overweight. **Objective:** to identify interrelations between the amount of TAAs and body mass index (BMI), clinical and pathological characteristics, generation rate of superoxide radicals (SR) and the activity of gelatinases (matrix metalloproteinases-2 and -9) in tumor associated adipose tissue (TAAT), the amount of disseminated tumor cells (DTCs) in the bone marrow (BM) and life expectancy of patients with gastric cancer (GC). **Methods:** immunocyto- and immunohistochemistry, zimography, NMR-spectroscopy, statistical analysis (Student's t-test, Spearman's rank correlation analysis, Kaplan — Meier's survival analysis). **Results:** a reliable correlation was found between the amount of TAAs in the tumor and the BMI of the patients with GC ($\rho = 0.41$; $p = 0.032$). The content of TAAs increases with the growth of tumor size in patients with pT4 category in 1.3 times ($p < 0.05$), which is higher than in the tumors of patients with pT1. Both regional and remote metastases revealed significantly more TAAs in tumors than in case of the absence of metastases. People with obesity and GC live reliably longer than patients with normal weight. Age of patients affects survival only in the presence of obesity: elderly patients live less than patients of middle age. A large number of TAAs in the tumor are associated, on the one hand, with a high rate of SR generation and activity of gelatinases in the TAAT, and on the other, with distant metastasis of GC. For patients with M1 category, 83% and 64%, respectively, have higher rates of SR and total activity of gelatinases in TAAT, and a 30% increase in TAAs in the tumor than in patients of the M0 category. For patients without clinically detectable metastases (category M0), a significantly higher amount of TAAs in the presence of DTC in the BM is characteristic of their absence. Patients with less than 26.5% of TAAs in the tumor live reliably longer and have a 2.9-times lower risk of adverse illness compared to patients whose tumors had TAAs higher than 26.5%. For the group of patients with the existing DTCs in the BM, no reliable dependence of survival on the values of the amount of TAAs ($p = 0.6203$) was detected, but this dependence was found for patients without micrometastases ($p = 0.005$). **Conclusions:** dysfunctional AT is a modifier of tumor's microenvironment and a factor of the formation of its aggressive phenotype. The amount of TAAs is associated with tumor growth, its regional and distant metastasis, deposition of the DTCs in the areas of distant metastasis and can be used to control the formation of MRD and the flow of GC in patients with overweight.

Key Words: tumor-associated adipocytes, superoxide radicals, gastric cancer, general survival, metastasis, minimal residual disease.

Адреса для листування:

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

Одержано: 31.01.2019