

І.І. Ганусевич
А.П. Бурлака
С.В. Вірко

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

Ключові слова: рак прямої кишки, ожиріння, жирова тканина, адипоцити, метастазування, метаболічний синдром.

РЕДОКС-СТАН ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ ТА ПУХЛИННЕ МІКРООТОЧЕННЯ У ХВОРИХ НА РАК ПРЯМОЇ КИШКИ: ЗВ'ЯЗОК ІЗ МЕТАСТАЗУВАННЯМ

Ожиріння є важливим фактором розвитку та перебігу деяких видів раку, зокрема пухлин шлунково-кишкового тракту. Низка пухлин розвиваються, а деякі — метастазують у місцях анатомічного накопичення жирової тканини (ЖТ). При ожирінні гіпертрофована ЖТ характеризується хронічним запаленням і є вагомим фактором, який впливає на формування пухлинного мікрооточення, а відтак — і на перебіг онкологічного захворювання. Мета: вивчити зв'язки між показниками редокс-стану жирової тканини та пухлинного мікрооточення залежно від клініко-патологічних характеристик і наявності ожиріння та інших ознак метаболічного синдрому у хворих на рак прямої кишки (РПК). Матеріали та методи: досліджено зразки тканин пухлин, печінки, метастазів у печінці, ЖТ (яка оточує пухлину та печінку) та кров 84 хворих на РПК I–IV стадії. Використано методи електронного парамагнітного резонансу при температурі рідкого азоту та технології Spin Traps, зимографії в поліакриламідному гелі, імуногістохімічні, біохімічні, спектрофотометричні, статистичні. Результати: дефекти в механізмі окисного фосфорилування, зростання швидкості генерування супероксидних радикалів (СР) та окиснення гуаніну в ДНК, активності матриксних металопротеїназ у прилеглий до пухлини ЖТ, пов'язані з відповідними характеристиками редокс-стану та вмістом пухлиноасоційованих адипоцитів (ПАА) у пухлині, які визначають її агресивний фенотип та є важливими чинниками прогресування РПК. Віддалене метастазування асоційоване з високою швидкістю генерування СР та кількістю ПАА в пухлині, з високою швидкістю генерування СР та активністю желатиназ, із низьким вмістом NO в ОПЖТ та високим вмістом вільних жирних кислот у крові хворих на РПК. Висновки: досліджені показники можуть мати прогностичне значення та стати підґрунтям нових терапевтичних підходів при лікуванні хворих на РПК з ожирінням та іншими ознаками метаболічного синдрому.

Відомо, що жирова тканина (ЖТ) негативно впливає на функції інших тканин та органів і таким чином робить свій внесок у розвиток та перебіг низки патологічних станів, зокрема злоякісної трансформації. Тож ожиріння є важливим фактором розвитку та перебігу деяких видів раку, зокрема пухлин шлунково-кишкового тракту. З огляду на гетерогенність ожиріння, його вивчення в онкологічній клініці потребує безпосереднього аналізу стану ЖТ та оцінки її негативного впливу на функції органів та тканин, зокрема, що найважливіше, пухлинної тканини.

Ожиріння підвищує ризик розвитку низки пухлин (ендометріального, езофагеального, ректального раку). Навпаки, ризик розвитку деяких пухлин (меланоми, раку яєчника, прямої кишки) не залежить від маси тіла. При ожирінні гіпертрофія жирових тканинних депо характеризується станом із низьким ступенем запалення (хронічним запаленням). У такому стані адипоцити та клітини запалення секретують

адипокіни та цитокіни, які відомі як промотори пухлинної прогресії. Відомо, що запалена ЖТ підвищує ступінь агресивності пухлини та загалом негативно впливає на життєдіяльність організму, таким чином ожиріння погіршує перебіг онкологічного захворювання, але механізми, які відповідають за ці взаємодії, сьогодні недостатньо з'ясовані [1, 2]. Низка пухлин (рак шлунка, молочної залози, товстої кишки, яєчника) розвиваються, а деякі — метастазують (рак шлунка, рак прямої кишки) в місцях анатомічного накопичення ЖТ. ЖТ є вагомим фактором, який впливає на формування мікрооточення певних типів пухлин людини — у тому числі рак печінки, жовчного міхура, стравоходу і підшлункової залози, шийки матки, яєчника, шлунка, ендометрія, молочної залози в постменопаузальний період, товстої кишки, передміхурової залози, карцинома нирки [3–5].

При взаємодії ЖТ із пухлинними клітинами, адипоцити перепрограмовуються у пухлиноасоційовані ади-

поцити (ПАА). ПАА секретиують адипокіни, які стимулюють адгезію, міграцію та інвазію пухлинних клітин, підвищують їх здатність до метастазування. У зв'язку з необхідністю підтримувати високі темпи проліферації, синтез білка і ДНК у пухлинних клітинах прискорений і відбувається з великими енерговитратами. Тому накопичення ліпідів адипоцитами при розвитку пухлини в безпосередній близькості до жирових депо є енергетичним джерелом для пухлинної прогресії [5–7].

Гіпертрофована і дисфункціональна ЖТ при ожирінні характеризується активацією генерування супероксидних радикалів (СР), які чинять пошкоджувальний вплив на тканину. Ключовим чинником окисно-відновного дисбалансу є дисфункціональні мітохондрії — основні редокс-формулючі органели в клітині, які генерують СР та оксид азоту (NO). За нормальних фізіологічних умов редокс-стан відповідає за регулювання експресії генів, стабільності білків, функціонування клітинних програм. Зміна редокс-стану пов'язана з агресивністю злоякісних пухлин і характеризується поглибленням клітинної гіпоксії, посиленням запальних процесів та підвищенням рівня деструкції позаклітинного матриксу [7–10]. Таким чином, дослідження участі мітохондрій у зміні метаболізму оточуючої пухлини ЖТ (ОПЖТ) є важливими у розумінні складних взаємовідносин між пухлиною та ЖТ.

Численні спостереження і дослідження підтвердили: ожиріння з надмірним накопиченням абдомінальної ЖТ зазвичай супроводжується метаболічними порушеннями і значною мірою підвищує ризик розвитку артеріальної гіпертензії (АГ), цукрового діабету II типу (ЦД II), атеросклеротичних захворювань. Тож ожиріння, поряд із ЦД II та АГ, є однією з визначальних ознак метаболічного синдрому (МС) [10–14]. При цьому, як і при ожирінні, ЖТ при ЦД II та/або АГ характеризується високим рівнем хронічного запалення [7, 15, 16] і за наявності у пацієнта онкологічного захворювання може бути чинником пропухлинного впливу.

Таким чином, складні взаємовідносини між пухлиною та ЖТ як при ожирінні, так і при інших ознаках МС, спричиняють прогресування онкологічного захворювання, тому дослідження механізмів так званого симбіозу пухлинних клітин та адипоцитів створює підґрунтя нових терапевтичних підходів у лікуванні онкологічних захворювань.

Тому мета проведеного нами дослідження — виявити зв'язки між показниками редокс-стану ЖТ та пухлинного мікрооточення залежно від клініко-патологічних характеристик і наявності ожиріння та інших ознак МС у хворих на рак прямої кишки (РПК).

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Клініко-патологічні характеристики хворих. Досліджено зразки тканин пухлин, печінки, метастазів у печінці, ЖТ, що оточує пухлину та печінку (ОПЖТ та ОПчЖТ відповідно), кров 84 хворих на РПК II–IV стадії (з них 59 — без віддалених мета-

стазів, 25 — з віддаленими метастазами, серед яких 19 — з метастазами у печінці). Кількість жінок та чоловіків становила 34 та 50 відповідно, середній вік — $64,0 \pm 1,6$ року. Пацієнти перебували на лікуванні в Національному інституті раку. Хворі не отримували передопераційної хімотерапії. Як контроль використали нормальну жирову тканину (НЖТ) 11 практично здорових людей, отриману після виконання ліпосакції у спеціалізованому медичному центрі. Дослідження виконували відповідно до принципів проведення біомедичних досліджень, викладених у Гельсінській декларації Всесвітньої медичної асоціації, за інформованою згодою пацієнтів.

Зібрано та систематизовано відомості щодо антропометричних та клініко-патологічних характеристик, наявності ожиріння та інших ознак метаболічного синдрому у пацієнтів. Використано методи електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) при температурі рідкого азоту та технології Spin Traps, зимографії в поліакриламідному гелі, імуногістохімічні, біохімічні спектрофотометричні, статистичні.

Індекс маси тіла (ІМТ) розраховували за формулою та інтерпретували відповідно до табл. 1 [17]:

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

де: m — маса тіла, кг; h — зріст, м.

Таблиця 1

Інтерпретація показників ІМТ
(відповідно до рекомендацій ВООЗ)

| ІМТ, кг/м ² | Співвідношення маси та зросту людини |
|------------------------|--------------------------------------|
| ≤16 | Виявлений дефіцит маси тіла |
| 16–18,5 | Недостатня маса тіла |
| 18,5–24,99 | Нормальна маса тіла |
| 25–30 | Надмірна маса тіла (передожиріння) |
| 30–35 | Ожиріння першого ступеня |
| 35–40 | Ожиріння другого ступеня |
| >40 | Ожиріння третього ступеня (морбідне) |

Імуногістохімічне визначення ПАА (Plin5⁺-клітин) проведено на парафінових зрізах тканин РПК з використанням специфічних кролячих МкАт (Termoscientific, США). Імунореакції були визначені та візуалізовані за допомогою полімер-пероксидазного методу (EnVision+/HRP, та 3,3-diaminobenzidin; DakoCytomation, Denmark) з подальшим дозбарвленням гематоксиліном Майєра. Як негативний контроль використовували PBS як заміну первинних антитіл. Plin5⁺-клітини були підраховані на 1000 клітин на кожному зрізі при збільшенні x400, і їх кількість виражали у відсотках до клітин у полі зору.

Активність матриксних металопротеїназ (ММП) у зразках тканин визначали методом зимографії в поліакриламідному гелі (із додаванням желатину як субстрата) на основі SDS-електрофорезу білків [18]. Після відмивання гелю активні форми ММП-2 та -9 візуалізувались 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 kDa відповідно). Оцінку протеолітичної активності про-

водили шляхом виміру площі зони лізису, використовуючи для порівняння стандартний набір ММП-2 і -9 («Sigma»). За умовну одиницю (у.о.) прийнято активність 1 мкг фермента в 1 г вихідного контрольного зразка. Результати оцінювали за допомогою стандартної програми TotalLab 1.01.

Рівні генерування СР та NO вимірювали методом ЕПР-спектроскопії за технологією Spin Traps (уловлювача радикалів) [19]. Для вимірювання рівнів комплексів NO-FeS-білки та активності Комплексу I електронтранспортного ланцюга (ЕТЛ) мітохондрій методом ЕПР із ЖТ готували зразки за допомогою спеціальної прес-форми та низькотемпературної стабілізації. Рівні комплексів NO-FeS-білки та активності Комплексу I ЕТЛ в мітохондріях реєстрували методом ЕПР при температурі рідкого азоту (77 °К) в парамагнітно чистому кварцовому д'юарі. Спектри ЕПР реєструвалися при $T=77$ °К. Одночасно зі спектрами досліджуваних зразків знімали спектр незалежного стандарту інтенсивності, за який використано спеціально орієнтований монокристал рубіну з відомою кількістю парамагнітних центрів [20]. Інтенсивність стандарту прийнято за 1 відн. од. вимірювань.

Біохімічні спектрофотометричні методи. 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) [20]. Для визначення вмісту вільних жирних кислот (ВЖК) у крові та 8-оксогуаніну в пухлинній та ЖТ пацієнтів використано відповідні набори реагентів («Sigma», USA). Виміри здійснено при відповідній довжині хвилі спектрофотометрично.

Статистичну обробку даних проведено з використанням методів варіаційної статистики із застосуванням програм «STATISTICA8.0» та «Prism 4.0». Вірогідність відмінностей між показниками оцінювали, використовуючи *t*-критерій Стьюдента. Кореляційний аналіз проводили з використанням коефіцієнта кореляції Спірмана (*rho*). Статистична значущість прийнята при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Виявлено, що ЕПР-спектри ОПЖТ суттєво відрізняються від спектрів НЖТ високим вмістом реакційно-активних сполук, що видно, зокрема на представлених спектрах НЖТ і ОПЖТ хворого на РПК (рис. 1).

Нами досліджено функціональний стан мітохондрій, а саме — активність Комплексу I ЕТЛ мітохондрій адипоцитів та клітин пухлини. Показано, що ця активність в ОПЖТ достовірно знижується у 3–5 разів порівняно із НЖТ, а в пухлині — у 2 рази нижча від такої в ОПЖТ. Причому активність Комплексу I ЕТЛ мітохондрій в ОПЖТ корелює зі ступенем диференціювання РПК ($\rho = 0,64$; $p < 0,05$), тобто агресивність пухлини асоційована з мітохондрі-

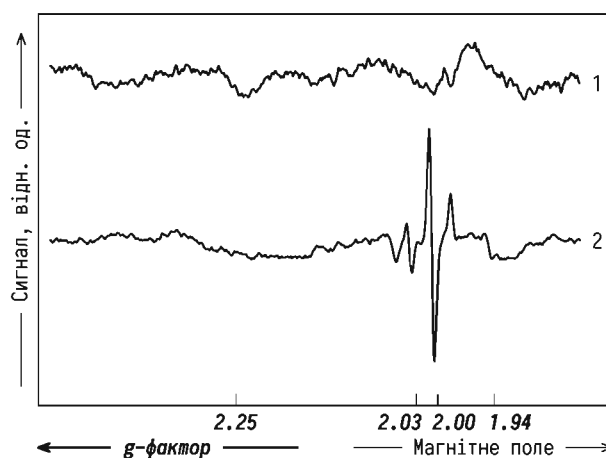


Рис. 1. Спектри ЕПР: 1 — НЖТ; 2 — ОПЖТ хворого на РПК (ІМТ > 25)

альною дисфункцією адипоцитів ОПЖТ. Відомо, що мітохондріальна дисфункція є фактором, який спричинює зміни редокс-стану та відповідну активацію редокс-залежних факторів. Тому ми дослідили низку показників, які можуть свідчити про зміни у редокс-балансі пухлинної тканини та ЖТ. Отримані результати демонструють, що швидкість генерування СР в мітохондріях адипоцитів ОПЖТ — у 4–4,5 рази достовірно вища, ніж у НЖТ, а в пухлині — у 1,5 рази вища, ніж у ОПЖТ. Таку ж динаміку змін нами виявлено щодо рівня 8-охоG — маркера окисно-індукованих мутацій ДНК. Рівень 8-охоG в ОПЖТ був у 4,5–5,0 рази достовірно вищий, ніж в НЖТ, а в пухлині — у 1,3–1,5 рази достовірно вищий, ніж в ОПЖТ. Показники активності ММП-2 та -9, які є редокс-регульованими ферментами, наростають від НЖТ до ОПЖТ та пухлинної тканини, де сягають значень у 2,5–3,0 рази вищих від показників у НЖТ. Причому різниця між цими значеннями в ОПЖТ та пухлині є недостовірною, що свідчить про те, що процеси деструкції позаклітинного матриксу, які є наслідком окисно-відновного дисбалансу та запалення в ОПЖТ, відбуваються там на рівні, співвимірному з пухлинною тканиною.

Таким чином, вплив пухлини на ЖТ при безпосередньому контакті з нею характеризується зростанням швидкості генерування СР адипоцитами, а внаслідок цього — поглибленням окисного стресу, результатом чого є зростання рівней окисно-індукованих мутацій ДНК та деструкції міжклітинного матриксу в ОПЖТ, яке ми спостерігаємо.

Рівні вмісту NO в ОПЖТ, на відміну від інших досліджених показників редокс-стану, нижчі від таких показників як у пухлині (в 4,0 рази; $p < 0,05$), так і в НЖТ (в 1,3–1,4 рази; $p > 0,05$), різниця з НЖТ є недостовірною. Зниження рівня NO у хворих з ожирінням зумовлене зниженням NO-продукуючої активності iNOS, яка може регулюватися білок-білковими взаємодіями і посттрансляційними модифікаціями. Пошкоджувальний вплив на iNOS та зниження її активності можуть викликати СР і продукти

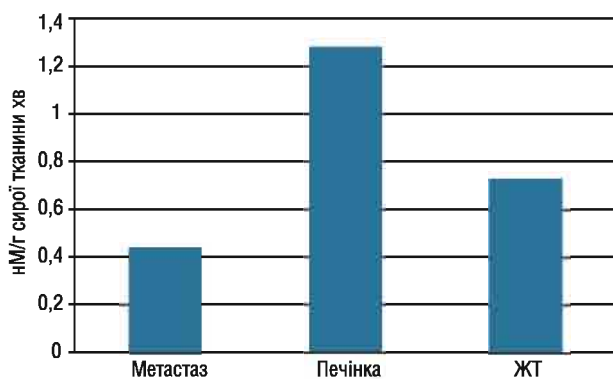


Рис. 2. Швидкість генерування СР в мітохондріях клітин хворих на мРПК. ($p < 0,05$ за порівняння показників у тканинах метастазу і печінки; ЖТ і печінки)

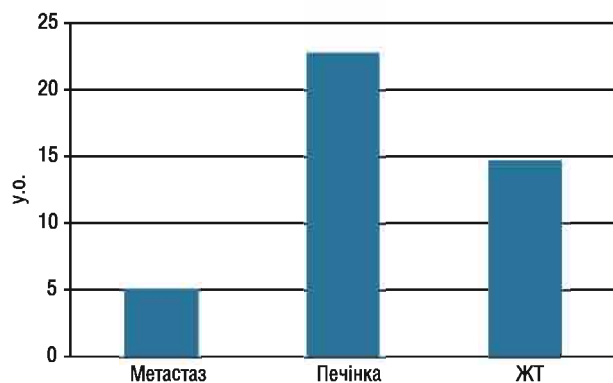


Рис. 3. Активність желатиназ (ММП-2 та ММП-9) у тканинах хворих на мРПК ($p < 0,05$ при порівнянні показників у тканинах метастазу і печінки; ЖТ і печінки)

окиснення ВЖК, окиснюючи кофактор BH_4 (тетрагідробіоптерин) до BH_2 (дигідробіоптерин). Дефіцит BH_4 або високі рівні BH_2 призводять до переключення іNOS із синтезу NO на синтез СР [21, 22]. При РПК в ОПЖТ знижується вміст NO, практично незалежно від ступеня диференціювання пухлини. Зниження вмісту NO є наслідком порушення балансу між його генеруванням та деградацією, тобто зниження рівнів NO в ОПЖТ може бути зумовлене зниженням активності іNOS та реакцією NO з СР, рівень яких в ОПЖТ зростає.

Відомо, що резекція печінки з метою видалення метастазів при метастазуючому РПК (мРПК), яка проводиться для подовження та покращення якості життя хворого, в багатьох випадках призводить до незворотного некрозу тканин печінки, який є летальним фактором [23]. З іншого боку, відомо, що віддалені метастази деяких видів раку, серед них і РПК, розвиваються в місцях, багатих на жирові депо [24]. З огляду на вищенаведені факти становить науковий інтерес дослідження метастатичного мікрооточення та факторів, які на нього впливають. Нами визначено показники швидкості генерування СР та активності желатиназ (ММП-2 та -9) у тканинах віддаленого метастазу, оточуючої метастаз тканини печінки та прилеглої до печінки жирової тканини (ОПЧЖТ) (рис. 2, 3). Виявлено, що рівні обох показників найнижчі у тканині мета-

стазу, а в ОПЧЖТ — у 1,5–2,0 раза вищі. У тканині печінки визначено найвищі показники швидкості генерування СР та активності желатиназ, вони достовірно перевищували такі у тканині метастазу в 3,0–4,0 раза, в ОПЧЖТ — у 1,5–2,0 раза. Отримані результати співвідносяться з деякими даними, отриманими на тваринних моделях, які свідчать про значну різницю між низкою показників у первинній пухлині та віддалених метастазах, зокрема щодо рівнів експресії ММП [25, 26]. Крім того, в рамках теорії «ніш» існує припущення, що желатинази задіяні у формуванні в місцях віддаленого метастазування мікрооточення, яке спричиняє майбутнє осідання дисемінованих пухлинних клітин, їх вихід із «сплячого» стану та подальший розвиток у метастатичні центри [26–28]. Сукупність наведених фактів пояснює низькі рівні показників у тканині метастазів та високі — в оточуючій їх тканині печінки. Дані наших досліджень з урахуванням сучасних поглядів на роль ЖТ у пухлинній прогресії [1–10], також дозволяють припустити, що ОПЧЖТ може впливати на формування мікрооточення тканини печінки, що оточує віддалений метастаз. Тому результати щодо стану метастатичного мікрооточення потребують подальшого ретельного дослідження та в перспективі можуть бути використані для прогнозування перебігу захворювання після резекції печінки у хворих на мРПК.

Метаболічний синдром (МС) включає комплекс ознак, серед яких, окрім ожиріння, такі розповсюджені та відомі тяжкими наслідками захворювання як ЦД II та АГ. Існуючі дані щодо стану ЖТ при ЦД II свідчать про те, що за рівнями запалення, продукції адипокінів та енергетичної дисфункції вона наближена до ОПЖТ [6–8, 29, 30]. Обидва мікросередовища мають подібні гістологічні особливості, в тому числі наявність запальних клітин, особливо макрофагів, які секретують цитокіни. Адипоцити пацієнтів з ЦД II, що пов'язаний з ожирінням, і з онкологічним захворюванням при ожирінні секретують адипокіни, які регулюють життєдіяльність самої ЖТ, а також спричиняють прогресію обох захворювань. Крім того, рак при ожирінні характеризується не лише активованою запаленою ЖТ, а і внутрішньопухлинним запаленням, яке спричиняє пухлинний ріст, ангиогенез, метастазування. Тож нами досліджені деякі показники редокс-стану ОПЖТ у хворих на РПК залежно від наявності у них таких ознак МС, як ожиріння та ЦД II (рис. 4, 5).

Показано, що швидкість генерування СР в ОПЖТ хворих на РПК за наявності ЦД II за нормальної маси тіла достовірно вища (більш ніж у 2,0 раза) порівняно із хворими без ЦД II; за наявності ЦД II та ожиріння також більш ніж у 2 рази достовірно вища порівняно із хворими з ожирінням, але без ЦД II. Таким чином, ЦД II у хворих на РПК асоційований із високими рівнями швидкості генерування СР мітохондріями адипоцитів, тоді як на-

явність ожиріння не впливає значно чи достовірно на продукцію СР клітинами ОПЖТ.

Виявлено, що активність желатиназ (ММП-2 та -9) в ОПЖТ хворих на РПК за наявності ЦД II за нормальної маси тіла у 2 рази достовірно вища, ніж у хворих без ЦД II; за наявності ЦД II та ожиріння — у 2 рази перевищує ($p < 0,05$) показники пацієнтів з ожирінням, але без ЦД II. При ожирінні в ОПЖТ хворих без ЦД II спостерігали у 2,5 рази вищу активність желатиназ, ніж за нормальної маси тіла; при ожирінні та ЦД II — у 2 рази вищу порівняно із хворими без ожиріння. Таким чином, як ожиріння, так і ЦД II у хворих на РПК асоційовані з високими рівнями деструкції позаклітинного матриксу в ОПЖТ.

У сучасній онкологічній практиці вкрай важливою є можливість використання у ролі маркерів позапухлинних показників. Показники крові хворих на рак, на відміну від пухлинної тканини або ЖТ, можуть бути використані багаторазово, що дає перспективу систематичного моніторингу перебігу захворювання, а забір матеріалу є малоінвазивною процедурою. Дисфункції адипоцитів викликають численні патологічні зміни. Зокрема, дисфункціональними адипоцитами виробляється надлишок ВЖК, які окиснюються і спричиняють токсичний вплив — пошкоджують клітинні мембрани сусідніх клітин, ендоплазматичний ретикулум та мітохондрії [31, 32], що призводить до порушення окисно-відновного балансу та окисного стресу. З іншого боку, токсичні окиснені жирні кислоти у міжклітинному просторі стимулюють реакції запалення, спричиняють накопичення макрофагів та нейтрофілів у ЖТ. Дисліпідемія є однією з ознак МС та характеризується вмістом ВЖК у крові > 150 мг/дл (1,69 ммоль/л) [33].

Нами досліджено вміст ВЖК у крові хворих на РПК залежно від наявності у них надмірної маси тіла та ЦД II (рис. 6). Виявлено, що ожиріння та ЦД II асоційовані із високим (вищим у 2 та 3 рази порівняно з пацієнтами без надмірної маси тіла та ЦД II відповідно; $p < 0,05$) вмістом ВЖК у крові хворих на РПК. Отримані результати свідчать, що за умови поглиблення та розширення таких досліджень вміст ВЖК у крові хворих на рак може бути додатковим маркером перебігу захворювання у пацієнтів з ознаками МС.

Дисфункціональна, редокс-розбалансована ОПЖТ є пропухлинним чинником. Тому з метою виявлення серед досліджених показників перспективних маркерів перебігу РПК нами досліджені показники редокс-стану ОПЖТ у зв'язку з деякими пропухлинними факторами в пухлинній тканині та клініко-патологічними характеристиками хворих (табл. 2).

Виявлено, що у хворих на РПК віддалене метастазування асоційоване з високою швидкістю генерування СР та активністю желатиназ, із низьким вмістом NO в ОПЖТ, з високою швидкістю генеру-



Рис. 4. Швидкість генерування СР у мітохондріях ОПЖТ у хворих на РПК при ЦД II ($p < 0,05$ при порівнянні показників груп «норма+ЦД» і «норма»; «ожиріння+ЦД» і «ожиріння»)

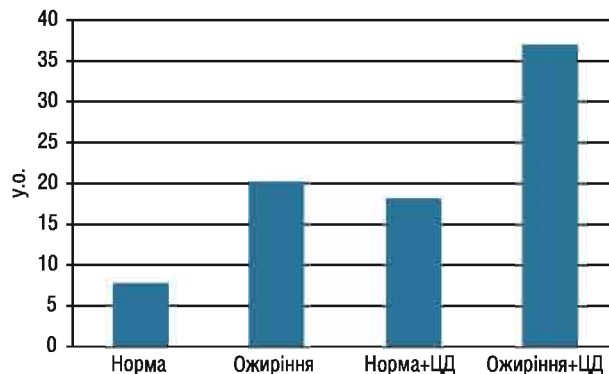


Рис. 5. Активність желатиназ (ММП-2 та -9) в ОПЖТ у хворих на РПК при ЦД II ($p < 0,05$ при порівнянні показників груп «норма+ЦД» і «норма»; «ожиріння+ЦД» і «ожиріння»; «норма» і «ожиріння»; «норма+ЦД» і «ожиріння+ЦД»)

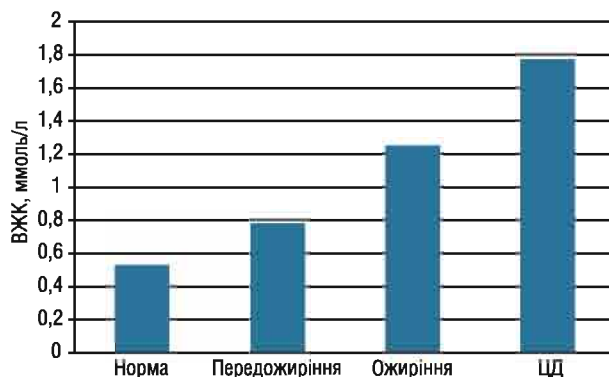


Рис. 6. Вміст ВЖК у крові хворих на РПК з ознаками МС

вання СР та кількістю ПАА в пухлині. Окрім цього, у крові хворих з віддаленими метастазами виявлено достовірно в 1,5 рази вищий вміст ВЖК, ніж у крові хворих без метастазів.

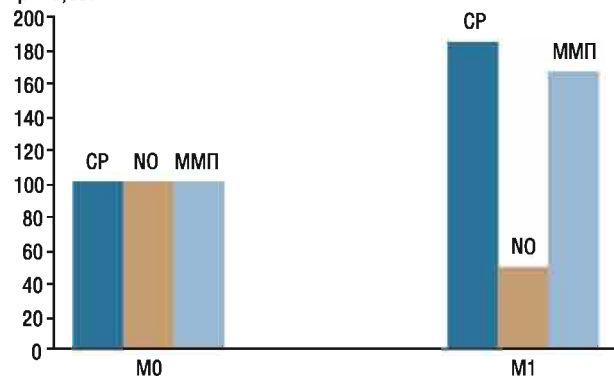
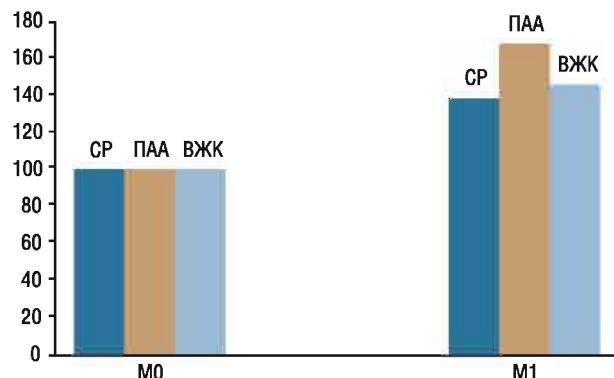
В ОПЖТ хворих категорії M_1 відзначали на 84 та 66% відповідно вищі показники швидкості СР та сумарної активності желатиназ, і на 51% нижчий вміст NO (рис. 7), ніж у хворих категорії M_0 .

У крові хворих категорії M_1 виявлені вищі показники швидкості СР, кількості ПАА в пухлині та вміст ВЖК (на 39; 68 та 46% відповідно), ніж у хворих категорії M_0 (рис. 8).

Редокс-стан ОПЖТ та мікрооточення РПК: зв'язок із метастазуванням

| ОПЖТ | | | Пухлина | | | | Категорія М |
|--------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|-------------|--------------------------|
| СР, нМоль/г сирової тканини хв | NO, нМоль/г сирової тканини | Желатинази (ММП-2 та -9), у.о. | СР, нМоль/г сирової тканини хв | NO, нМоль/г сирової тканини | Желатинази (ММП-2 та -9), у.о. | ПАА, % | |
| 0,37 ± 0,09 | 0,67 ± 0,16 | 14,3 ± 2,9 | 0,87 ± 0,11 | 2,23 ± 0,33 | 21,3 ± 5,2 | 21,3 ± 4,4 | M ₀ n = 59 |
| 0,68 ± 0,12* | 0,33 ± 0,09* | 23,7 ± 4,5* | 1,21 ± 0,15* | 2,48 ± 0,28 | 16,9 ± 3,6 | 35,2 ± 5,1* | M ₁ n = 25 |

*p < 0,05.

Рис. 7. Швидкість генерування СР, вміст NO і сумарна активність желатиназ у ОПЖТ хворих на РПК категорії M₁ (у % до показників хворих категорії M₀)Рис. 8. Швидкість генерування СР, кількості ПАА в пухлині та вміст ВЖК у крові хворих на РПК категорії M₁ (у % до показників хворих категорії M₀)

Таким чином, стосунки між пухлиною та ОПЖТ 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 позаклітинного матрикса, 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.

ВИСНОВКИ

1. Дефекти у функціонуванні ЕТЛ, зростання швидкості генерування СР та окиснення гуаніну в ДНК, активності ММП в ОПЖТ пов'язані з відповідними характеристиками редокс-стану та вмістом

ПАА в пухлині, які визначають її агресивний фенотип та є важливими чинниками прогресування РПК.

2. Рівень дисфункціональності ЖТ хворих на РПК визначається як фактором ожиріння, так і локальним впливом пухлини, а також пов'язаний з такою ознакою МС, як ЦД II.

3. ОПЧЖТ може впливати на формування метастатичного мікрооточення, показники її редокс-стану в перспективі можуть бути використані для прогнозування перебігу захворювання після резекції печінки у хворих на МРПК.

4. Віддалене метастазування асоційоване з високою швидкістю генерування СР та кількістю ПАА в пухлині; з високою швидкістю генерування СР та активністю желатиназ; з низьким вмістом NO в ОПЖТ та високим вмістом ВЖК у крові хворих на РПК.

5. Досліджені показники можуть мати прогностичне значення при лікуванні хворих на РПК з ожирінням та іншими ознаками МС.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Lengyel E, Makowski L, DiGiovanni J, Kolonin MG. Cancer as a Matter of Fat: The Crosstalk between Adipose Tissue and Tumors. *Trends Cancer* 2018; 4 (5): 374–84.
- Grewal T, Enrich C, Rentero C, Buechler C. Annexins in Adipose Tissue: Novel Players in Obesity. *Int J Mol Sci* 2019; 20 (14): 2–23.
- 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.
- Tian J, Zuo C, Liu G, Che P, et al. Cumulative evidence for relationship between body mass index and risk of esophageal cancer: An updated meta-analysis with evidence from 25 observational studies. *J Gastroenterol Hepatol* 2019; 35 (5): 730–43.
- Zimta AA, Tigu AB, Muntean M, Cenario D, et al. Molecular Links between Central Obesity and Breast Cancer. *Int J Mol Sci* 2019; 20 (21): 69–86.
- Vorotnikov AV, Stafeev IS, Menshikov MY, Shestakova MV, et al. Latent Inflammation and Defect in Adipocyte Renewal as a Mechanism of Obesity-Associated Insulin Resistance. *Biochemistry (Mosc)*. 2019; (11): 1329–45.
- Lega IC, Lipscombe LL. Review: Diabetes, Obesity and Cancer — Pathophysiology and Clinical Implications. *Endocr Rev* 2019; 41 (1): 33–52.
- Vander Heiden MG, De Berardinis RJ. Understanding the intersections between metabolism and cancer biology. *Cell* 2017; 168 (4): 657–69.
- Vernieri C, Casola S, Fojani M, Pietrantonio F, de Braud F, Longo V. Targeting cancer metabolism: dietary and pharmacologic interventions. *Cancer Discov* 2016; 6 (12): 1315–33.
- Park J, Morley TS, Kim M, Clegg DJ, Scherer PE. Obesity and cancer — mechanisms underlying tumour progression and recurrence. *Nat Rev Endocrinol* 2014; 10 (8): 455–65.

11. Kerschbaum E, Nüssler V. Cancer Prevention with Nutrition and Lifestyle. *Visc Med* 2019; **35** (4): 204–9.

12. Contreras García E, Zaragoza-Martí A. Influence of food or food groups intake on the occurrence and / or protection of different types of cancer: systematic review. *Nutr Hosp* 2020; **37** (1): 169–192 (in Spain).

13. Meynet O, Ricci Je. Caloric restriction and cancer: molecular mechanisms and clinical implications. *Trends mol med* 2014; **20** (8): 419–27.

14. Scheja L, Heeren J. The endocrine function of adipose tissues in health and cardiometabolic disease. *Nat Rev Endocrinol* 2019; **15** (9): 507–524.

15. Tutunchi H, Ostadrahimi A, Hosseinzadeh-Attar MJ, Miryan M, et al. A systematic review of the association of neuregulin 4, a brown fat-enriched secreted factor, with obesity and related metabolic disturbances. *Obes Rev* 2019; 1–10.

16. Tannenbaum A, Silverstone H. Nutrition in relation to cancer. *Adv Cancer Res* 1953; **1**: 451–501.

17. «BMI Classification». Global Database on Body Mass Index. World Health Organization 2006; **27**: 2012.

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

19. 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.

20. Burlaka AP, Sidorik EP. Radical forms of oxygen and nitric oxide in the tumor K: *Naukova dumka*, 2006. 227 p. (in Ukrainian).

21. Choudhari SK, Chaudhary M, Bagde S, et al. Nitric oxide and cancer: a review. *World J Surg Oncol* 2013; **11**: 118–27.

22. Jahani-Asl A, Bonni A. iNOS: a potential therapeutic target for malignant glioma. *Curr Mol Med* 2013; **8**: 1241–9.

23. Burlaka AP, Golotyuk VV, Vovk AV, Lukin SM, Sidorik EP. Platelet redox status in patients with rectal cancer and its effect on treatment effectiveness. *Oncology* 2015; **17** (2): 96–101 (in Ukrainian).

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

25. Noel A, Guttierrez-Fernandez A, Sounni NE, et al. New and paradoxical roles of matrix metalloproteinases in the tumor microenvironment. *Front Pharmacol* 2012; **3**: 1–9.

26. Ganusevich II, Mamontova LA, Kovelska AV, et al. Matrix metalloproteinases as factors of the stromal microenvironment of the tumor: a role in the course of minimal residual disease in gastric cancer. *Oncology* 2015; **3** (65): 169–76 (in Ukrainian).

27. Kang Y, Pantel K. Tumor cell dissemination: emerging biological insights from animal models and cancer patients. *Cancer Cell* 2013; **23**: 573–81.

28. Osinsky D, Kovelskaya A, Bubnovskaya L, et al. CXCR4 Expression in Gastric Cancer and Bone Marrow: Association with Hypoxia-Regulated Indices, Disseminated Tumor Cells, and Patients Survival. *J Cancer Res*, 2015: 1–8.

29. Ramos-Nino ME. The role of chronic inflammation in obesity-associated cancers. *ISRN Oncol*, 2013: 1–25.

30. Myre M, Imbeault P. Persistent organic pollutants meet adipose tissue hypoxia: does cross-talk contribute to inflammation during obesity? *Obes Rev* 2014; **15** (1): 19–28.

31. Nomura DK, Long JZ, Niessen S, et al. Monoacyl glycerol lipase regulates a fatty acid network that promotes cancer pathogenesis. *Cell* 2010; **140**: 49–61.

32. Dirat B, Bochet L. Cancer-associated adipocytes exhibit an activated phenotype and contribute to breast cancer invasion. *Cancer Res* 2011; **71**: 2455–65.

33. Braun S, Bitton-Worms K, LeRoith D. The link between the metabolic syndrome and cancer. *Int J Biol Sci* 2011; **7**: 1003–15.

REDOX STATE OF THE ADIPOSE TISSUE AND THE TUMOR MICROENVIRONMENT IN PATIENTS WITH COLON CANCER AND THEIR RELATIONSHIPS WITH METASTASIS

I.I. Ganusevich, A.P. Burlaka, S.V. Virko

RE Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. Obesity is an important factor in the development and passing of certain types of cancer, particularly the tumors of the gastrointestinal tract. Some tumors can develop and other can metastasize in the regions of anatomical accumulation of adipose tissue (AT). Hypertrophied AT in obesity is characterized by chronic inflammation. It is an important factor that affects the formation the tumor microenvironment, and therefore the course of the cancer passing. **Aim.** To identify the relationships between the redox state of AT and tumor microenvironment in dependence on the clinical and pathological characteristics and the presence of obesity and other signs of the metabolic syndrome in patients with colorectal cancer (CRC). **Materials and methods:** the samples of tumor tissues, liver, liver metastases, AT tissues (surrounding the tumor and liver), and the blood of 84 patients with CRC at II–IV stages have been studied. The experimental techniques of electron paramagnetic resonance (EPR) at liquid nitrogen temperature and Spin Traps technology, zymography in polyacrylamide gel and the immunohistochemical, biochemical, spectrophotometric and statistical analyzes were used. **Results:** the defects in mechanism of oxidative phosphorylation, the increase in the rate of superoxide generation and the oxidation of guanine in DNA, the activity of matrix metalloproteinases in the AT in the vicinity of tumor were associated with the corresponding characteristics of the redox state and the content of tumor-associated adipocytes (TAA) in the tumor. These characteristics determine its aggressive phenotype and are important factors in the progression of CRC. Distant metastasis was associated with i) the high rate of the superoxide generation and quantity of TAA in tumors; ii) the high rate of the superoxide generation and activity of gelatinase, and iii) the low content of NO in the tumor tissue of the AT environment and high content of free fatty acids in the blood of patients with CPC. **Conclusions:** the studied indicators may have a prognostic value and become the basis of new therapeutic approaches in the treatment of CRC patients with obesity and other signs of metabolic syndrome.

Key Words: colorectal cancer, obesity, adipose tissue, adipocytes, metastasis, metabolic syndrome

Адреса для листування:

Ганусевич І.І.

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

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

E-mail: iganus2000@yahoo.com

Одержано: 22.05.2020