

В.О. Шляховенко,
І.І. Ганусевич,
О.А. Самойленко,
А.В. Вербиненко

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

Ключові слова: колоректаль-
ний рак, РНКаз, жирова
тканина, електрофорез,
метастази.

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2023.02.122>

МОЛЕКУЛЯРНА ГЕТЕРОГЕННІСТЬ РИБОНУКЛЕАЗ ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ ХВОРИХ НА КОЛОРЕКТАЛЬНИЙ РАК

Мета: дослідити молекулярну гетерогенність рибонуклеаз (РНКази) жирової тканини у хворих на колоректальний рак (КРР) з наявністю або відсутністю метастазів та за умови надмірної маси тіла. **Об'єкт і методи:** досліджували жирову тканину хворих на КРР з метастазами і без метастазів. Для аналізу гетерогенності РНКази використана методика ензимогам з кількісною оцінкою активності у програмі GelAnalyzer. **Результати:** встановлено, що РНКази жирової тканини виявляють значну молекулярну гетерогенність, більш виражену у хворих на КРР з метастатичним процесом. В ензимограмах хворих з метастазами реєструється від 2 до 6 ізоформ ферменту. Активність РНКази у жировій тканині хворих на КРР з метастазами значно вища, ніж у хворих без метастазів. **Висновок:** одержані дані можуть бути використані при оцінці прогнозу перебігу і формуванні терапевтичних підходів до лікування колоректального раку.

Біомаркери, як біологічні індикатори нормальних або патологічних процесів, важливі для профілактики, діагностики та прогнозу захворювань (зокрема і онкологічних), а також для моніторингу прогресування патологічних розладів. В якості біомаркерів можуть виступати присутні в тканинах та біологічних рідин молекули, такі як ДНК, кодуючі та некодуючі РНК, метаболіти, ліпіди, білки.

У зв'язку з важливістю РНК для проявів фенотипу пухлинних клітин, зростає значимість пов'язаних з метаболізмом цих молекул ферментів, насамперед рибонуклеаз. Рибонуклеази (РНКази) — ферменти, які розщеплюють молекули РНК на менші фрагменти. Молекулярна гетерогенність ферментів — важливий показник клітинного метаболізму. Значимість цього факту зросла після того, як з'ясувалось, що окремі ізоформи ферментів за однакової субстратної специфічності відрізняються один від одного за кінетичними властивостями (відношення до інгібіторів, активаторів, константами Міхаеліса і т.п.), і що спектри ізоферментів (їх відносна активність і навіть число) змінюються при різних фізіологічних і патологічних станах. З'ясувалось, зокрема, що характер розподілу ізоформ ферментів тісно пов'язаний з ключовими напрямками метаболізму і, очевидно, відіграє тут вирішальну роль [1]. Виключно важлива роль рибонуклеаз у регулюванні функції геному на рівні епігеномних змін робить дослідження молекулярного поліморфізму цих ферментів та їх окремих ізоформ особливо актуальним.

Дослідження біомаркерів відіграє важливу роль у виявленні та лікуванні пацієнтів з онкологічними

захворюваннями, серед яких одним з найбільш поширених є колоректальний рак (КРР). КРР займає друге місце за частотою діагностування серед жінок і третє серед чоловіків у всьому світі [2]. Це захворювання також значно сприяє зростанню смертності від раку, незважаючи на постійний прогрес у діагностичних і терапевтичних методах. У даний час важливу роль у виявленні та лікуванні пацієнтів з КРР відіграють біомаркери. Галузь досліджень може бути розширена шляхом пошуку нових маркерів, які окремо, чи як доповнення до існуючих тестів, дозволять прогнозувати схильність до захворювання, або виявляти його ранню стадію. Існують також спроби персоналізувати діагностику та лікування пацієнтів шляхом вибору адекватних хіміотерапевтичних препаратів на основі наявності або відсутності специфічних біомаркерів. Метою майбутніх досліджень є ідентифікація таких біомаркерів, які могли б уможливити малоінвазивну та економічно ефективну діагностику, а також запропонувати найкращу прогностичну панель для доступних методів лікування. Останнім часом важливого значення набуває вивчення фізіологічних і біохімічних процесів в організмі із застосуванням мінімально травматичних методик. Корисним діагностичним субстратом для виявлення біомаркерів, пов'язаних із локальними та системними захворюваннями, може бути жирова тканина. Стан жирової тканини відображає патофізіологічні стани організму та дозволяє здійснювати раннє, швидке, практичне і малоінвазивне виявлення біомаркерів.

Ожиріння — стан, при якому накопичується надлишок жиру в організмі. Ожиріння може

спричинити запалення і призвести до порушення фізіологічної функції жирової тканини, яка є основним місцем зберігання жиру в організмі. Дисфункціональна жирова тканина — це тканина, в якій жирові клітини не функціонують належним чином, що призводить до збільшення накопичення кількості жиру та зменшення його спалювання. Поява дисфункціональної жирової тканини супроводжується виникненням низки проблем зі здоров'ям, включаючи резистентність до інсуліну, діабет 2 типу, хвороби серця та збільшення ризику онкологічних захворювань. Ожиріння пов'язане з хронічним запаленням, може сприяти росту пухлини та її прогресії [3]. Зокрема, одним із факторів ризику розвитку КРР вважають ожиріння, яке часто пов'язане з дисфункцією жирової тканини. Метастази є основною причиною смертності хворих на КРР. Можливо, що змінена жирова тканина сприяє розвитку КРР та виникненню метастазів.

Жирова тканина є динамічним і складним ендокринним органом, що складається не тільки з адипоцитів, але і з імунних клітин, які можуть секретувати багато чинників, включаючи адипокіни і прозапальні цитокіни, котрі впливають на навколопухлинне мікрооточення [4]. І хоча прямого зв'язку між адипокінами та активністю РНКаз немає, було показано, що адипокіни побічно впливають на їх активність шляхом регуляції експресії РНКаз у певних типах клітин. Наприклад, адипокіни, такі як лептин і адипонектин, можуть впливати на експресію РНКаз, а також на експресію інших ферментів, пов'язаних з репарацією ДНК [5]. В цілому РНКазі відіграють важливу роль при КРР, а їх експресія і активність може змінюватись у осіб з ожирінням при цій хворобі [6, 7]. Однак молекулярні механізми, за допомогою яких дисфункціональна жирова тканина сприяє розвитку КРР, ще недостатньо вивчені.

Тому метою даного дослідження було вивчити молекулярну гетерогенність РНКаз у жировій тканині хворих на КРР з наявністю або відсутністю метастатичного процесу.

ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідженні було використано операційний матеріал 17 хворих на КРР (7 чоловіків, 10 жінок), які перебували на лікуванні в Національному інституті раку МОЗ України у період 2020–2023 рр. та дали інформовану згоду на використання клінічних даних у наукових цілях відповідно до вказівок, викладених у Гельсінкській декларації. Середній вік пацієнтів становив $60,1 \pm 8,2$ року). Діагноз був встановлений за результатами клінічного обстеження, позитивної колоноскопії, підтверджений результатами біопсії. Включені у дослідження пацієнти не отримували неоад'ювантну хіміо- або променеву терапію. Всі хворі були прооперовані.

Перед операцією реєстрували зріст і вагу пацієнтів та розраховували індекс маси тіла (ІМТ):

$$\text{ІМТ} = m / h^2,$$

де m — вага в кг, h — зріст у метрах [8].

Пацієнти з КРР були розділені на дві групи відповідно до наявності метастатичного процесу. Перша група включала 7 хворих на КРР без метастазів (M_0), друга — 10 хворих з метастазами (M_1). У кожній групі за величиною ІМТ пацієнтів було розподілено на 2 підгрупи: ІМТ 18–24,9 кг/м² (нормальна вага), і $\geq 25,0$ кг/м² (надмірна вага) [9]. Більш детальні клініко-патологічні характеристики пацієнтів представлені в таблиці.

Віддалені від пухлини зразки жирової тканини, які були одержані під час операції, промивали фізіологічним розчином і негайно заморожували у рідкому азоті та зберігали при -80°C до проведення аналізу. Для визначення активності РНКаз після розморожування жирової тканини відбирали порції матеріалу, які гомогенізували у буферному розчині Гронова 1:5 (вага/об'єм), гомогенат центрифугували при 1500 g, 5 хв. Усі процедури одержання екстрактів проводили на льоду. Концентрацію білка в отриманих екстрактах визначали за допомогою спектрофотометра NanoDrop 2000c (Thermo Fisher Scientific, США). Після цього до 100 мкл білкових екстрактів (20–100 мкг) додавали 100 мкл 2,0% розчину додецилсульфату натрію (ДДС), що містить 10,0% гліцерину. У якості маркерного барвника до зразка додавали 0,005% бромфенолового синього.

Активність РНКаз визначали методом зимограм із фотополімеризацією акриламідів. Електрофорез проводили у вертикальних блоках поліакриламідного гелю, застосовуючи буферну систему Laemmly (1970), та систему фотополімеризації [10]. Гель містив 20,0% акриламідів, 2,8% метилен-біс-

Таблиця

Розподіл хворих на КРР ($n=17$, 100%)
за клініко-патологічними характеристиками та ІМТ

Характеристики	Кількість хворих		ІМТ	
	n	%	18–25 кг/м ²	$\geq 25,0$ кг/м ²
Стать				
Чоловіча	7	41,2	42,9%	57,1%
Жіноча	10	58,8	30,0%	70,0%
Вік (роки)				
< 60	8	47,1	17,7%	29,3%
≥ 60	9	52,9	17,7%	35,3%
Гістологічна структура пухлини				
Аденокарцинома кишкового типу	17	100,0	35,3%	64,7%
Наявність метастазів				
M_0	7	41,2	11,8%	29,4%
M_1	10	58,8	23,5%	35,3%

акриламід, 2,4 мг/мл ЕДТА та 4 мг/100 мл рибофлавіну. Як субстрат ферментативної реакції у склад гелю вводили високополімерну РНК із *E. coli*. Розчин для полімеризації гелю готували при темному освітленні. Суміш поміщали в електрофоретичну камеру між двома скляними пластинами і освітлювали світлодіодним (LED) випромінювачем видимого світла (400–700 нм), лампа Philips E27 (потужність 11 Вт, еквівалентна потужність 95 Вт, світловий потік 1100 Лм). Відстань між джерелом світла та електрофоретичною камерою становила 10 см. Під час фотополімеризації цієї суміші протягом 10–20 хв утворювалися високозшиті блоки АМ/Біс, і гель залишався повністю прозорим. Під час електрофорезу прикладена напруга становила 100 В, використовувався електродний буфер (суміш розчину гліцину (1,4%), Трис (0,46 М) і ДДС (0,1%). Отримані зразки для нанесення на гель розчиняли в 0,4 М Трис-НСІ буфері (рН 6,8), що містив гліцерин (5,0%), ДДС (0,1%) та бромфеноловий синій (0,005%) і вносили у лунки гелю. Типовий час розділення становив приблизно 1,5 год. Після закінчення електрофорезу блоки гелю виймали з камери, вносили у розчин 25,0% ізопропанолу для видалення ДДС, після чого інкубували у 0,05 М ацетатному буфері (рН 5,5) або у трис-НСІ буфері (рН 7,7) і забарвлювали у розчині 0,1% толуїдинового синього. Всі реагенти, використані в дослідженні, були придбані в Sigma-Aldrich, США. Після відмивання гелів від надлишку барвника їх висушували, фотографували і обробляли у програмі GelAnalyzer для кількісної оцінки ізоформ РНКаз та їх активності.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою математичної програми медико-біологічної статистики STATISTICA 6.0. Для оцінки

достовірності отриманих результатів використовували *t*-критерій Стьюдента; достовірними вважали різницю при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Молекулярна гетерогенність РНКаз людини визначається головним чином присутністю полісахаридів, частка яких у молекулі ферменту може досягати 50,0% [11–15].

На *рис. 1* представлена ензімограма, яка відображає гетерогенність і активність РНКаз у жировій тканині хворих на КРР, за умов виявлення ферментативної активності при рН 5,5.

У хворих з наявністю метастатичного процесу реєструється 3–6 ізоформ РНКазної активності (див. *рис. 1*, *треки 1–4*). У хворих без метастазів реєстрували 1, інколи 2 ізоформи ферменту (див. *рис. 1*, *треки 5–8*). Крім того, РНКазна активність жирової тканини хворих, що мають метастази, загалом була значно вищою, ніж у хворих без метастазів.

На *рис. 2* представлена ензімограма, яка відображає гетерогенність і активність РНКаз у жировій тканині хворих на КРР, за умов виявлення ферментативної активності при рН 7,7.

Як і на *рис. 1*, відмічається значна молекулярна гетерогенність РНКаз у жировій тканині хворих на КРР з наявністю метастатичного процесу. Порівняння ензімограм продемонструвало, що ферментативна активність в електрофореграмах, які інкубували при 37°C у буфері з рН 7,7 (див. *рис. 2*), значно вища ніж там, де гелі інкубували при рН 5,5 (див. *рис. 1*), що вказує на близькість РНКаз жирової тканини до РНКаз-1 з підшлункової залози. Рибонуклеази жирової тканини виявляють молекулярну гетерогенність, яка відрізняється залежно

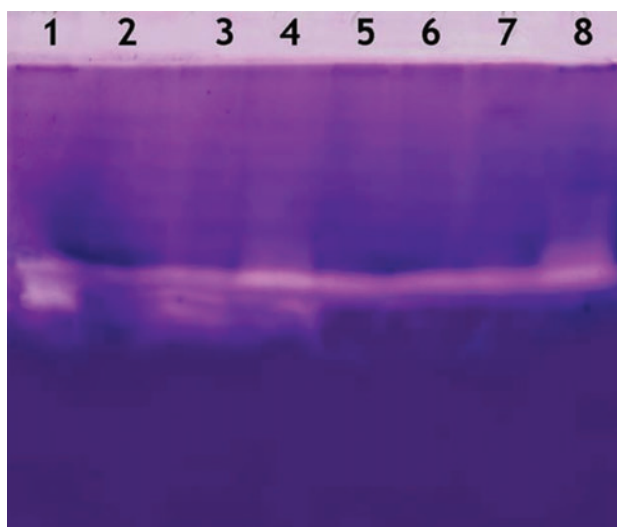


Рис. 1. Електрофорез РНКаз жирової тканини хворих на КРР з метастазами (*треки 1–4*) та без метастазів (*треки 5–8*). Субстрат — високополімерна РНК, рН інкубації 5,5



Рис. 2. Електрофорез РНКаз жирової тканини хворих на КРР з метастазами (*треки 1–3*) та без метастазів (*треки 4–7*). Субстрат — високополімерна РНК, рН інкубації 7,7

від наявності метастатичного процесу у хворих на КРР.

За кількістю ізоформ РНКаЗ хворі з нормальною масою тіла ($< 25 \text{ кг/м}^2$) не відрізнялись від хворих з надмірною вагою ($\geq 25,0 \text{ кг/м}^2$). Кількісний аналіз електрофореграм шляхом обробки у програмі GelAnalyser показує, що сумарна РНКазна активність усіх ферментативно активних зон у хворих на КРР з метастазами майже у 4 рази перевищує рівень активності у жировій тканині хворих без метастазів (рис. 3).

Найбільш висока ферментативна активність в ензімограмах звичайно зосереджена переважно в одній із ізоформ. Тому окремо був проведений порівняльний аналіз РНКасної активності у максимально активній зоні ензімограм у хворих на КРР з метастазами та без метастазів (рис. 4). Найбільш високу ферментативну активність реєстрували у жировій тканині хворих на КРР з метастазами, що підтверджує результати, наведені на рис. 3.

РНКаза у багатьох випадках демонструє молекулярну гетерогенність (молекулярна маса 18 000–26 000) через різні ступені N-глікозилювання [16]. Глікозилювання є звичайною модифікацією, яка може надати білкам змінені фізичні та біологічні властивості. Глікозилювання каталізується глікозилтрансферазами, які в клітинах розташовані переважно в апараті Гольджі. Ці ферменти глікозилюють різні складні вуглеводи, такі як глікопротеїни, гліколіпіди та протеоглікани. Активність глікозилтрансфераз і експресія їх генів змінюються у різних патофізіологічних ситуаціях, включаючи рак [17]. Крім того, їх активність контролюється різними факторами, такими як рівні нуклеотидних цукрів, акцепторних субстратів, нуклеотидних транспортерів цукрів, шаперонів і ендогенного лектину в ракових клітинах. Глікозилювання призводить до різних функціональних змін глікопротеїнів, включаючи ферменти, рецептори клітинної поверхні та молекули адгезії, такі як Е-кадгерин та інтегрини. Ці зміни обумовлюють унікальні характерні фенотипи, пов'язані з раковими клітинами

[17]. Зокрема, значний інтерес становить вплив заряджених моносахаридів (головним чином сіалових кислот) на 2-d структуру білків, оскільки зміни в сіалюванні регулярно спостерігаються у порівняльних дослідженнях [18]. Ряд даних свідчить, що РНКаза, яка знаходиться у мікрооточенні пухлинних клітин, контролює стан їх диференціювання [19]. Виявлене нами збільшення рівня активності РНКази у жировій тканині хворих на КРР з наявністю метастазів співпадає з даними дослідників [20], які показали, що рівень РНКази у плазмі крові хворих на рак передміхурової залози корелює з агресивністю перебігу захворювання. Автори стверджують, що цей показник може бути використаний в якості прогностичного маркера завдяки асоціації із захворюваннями з більш високими ступенем злоякісності за шкалою Глісона та стадією прогресування хвороби, а також підвищеним ризиком метастазування.

Процес колоректального канцерогенезу характеризується генетичними та епігенетичними змінами, які перетворюють нормальні клітини на ракові. Більшість досліджень щодо молекулярних маркерів були зосереджені на виявленні ДНК пухлини у калі. Ці дослідження були спрямовані на виявлення мутованих генів *KRAS*, *TP53*, *APC* і маркерів мікросателітної нестабільності [21, 22, 23], а також коротких, некодуючих 18–22 нуклеотидних молекул РНК у калі пацієнтів з КРР. Виявлено, що найбільш детально вивчені miR21, miR106a, miR135, miR17-92 надекспресуються у пацієнтів з КРР порівняно зі здоровими людьми [24, 25]. Як і у випадку з РНК-маркерами в калі, у багатьох дослідженнях оцінювали мРНК різних пухлинних генів у цільній крові, плазмі або циркулюючих пухлинних клітинах з метою виявлення нових маркерів для скринінгу КРР. В більшості з них досліджували експресію мРНК цитокератину (СК)-19, СК-20 та раково-ембріонального антигену. Загальна прогностична чутливість цих маркерів становила до 72%, зокрема, коли використовували їх комбінації [26, 27]. Специфічність була дуже висо-

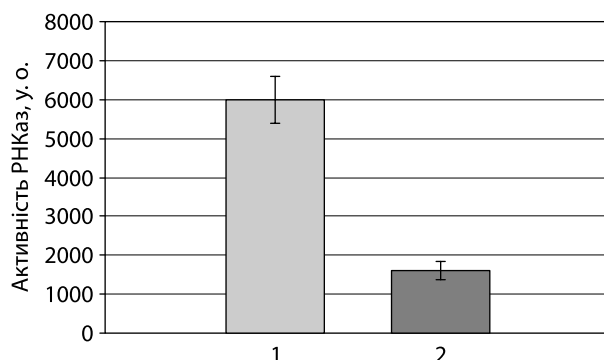


Рис. 3. Загальна РНКазна активність у зонах ензімограм жирової тканини хворих з метастазами (1) та без метастазів (2)

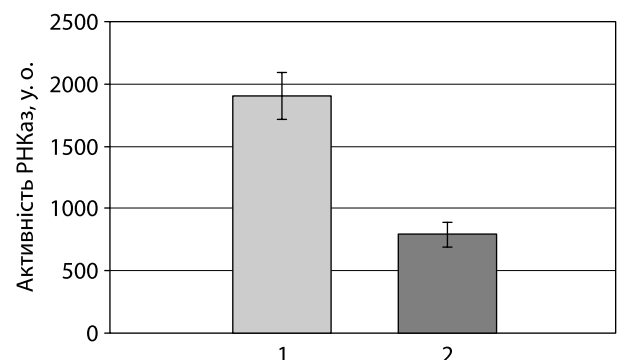


Рис. 4. РНКазна активність у ензімограмах зони з максимальною активністю у жировій тканині хворих з метастазами (1) та без метастазів (2)

кою для контрольних зразків здорових тканин але набагато нижчою порівняно зі зразками раку чи запальних захворювань кишечника [28]. Недавні дослідження показали, що циркулюючі мікроРНК можуть брати участь у процесі онкогенезу. Зараз оцінюється використання мікроРНК (зокрема miR145, miR143, miR135, miR17-92) в якості біомаркерів. Показано, що miR29a та miR92a плазми крові пацієнтів з КРР демонструють значну діагностичну цінність для поширеної неоплазії з чутливістю 83% та специфічністю 84%. Поява таких молекул є результатом активності відповідних РНКаз [29].

Таким чином, нові потенційні біомаркери на основі ізоформ РНКаз можуть бути цінними при їх використанні у поєднанні з традиційними пухлинними маркерами та іншими діагностичними підходами, особливо для раннього виявлення багатьох різних пухлин, для яких специфічні та чутливі біомаркери все ще недоступні.

ВИСНОВКИ

1. РНКази жирової тканини, віддаленої від пухлинного вузла, у хворих на КРР виявляють значну молекулярну гетерогенність. В ензімограмах жирової тканини виявляється від 2 до 6 ізоформ ферменту.

2. У хворих з наявністю метастатичного процесу реєструється 3–6 ізоформ РНКази активності. У хворих з відсутністю метастазів реєструється 1, інколи 2 ізоформи ферменту.

3. РНКазна активність жирової тканини у хворих на КРР з метастазами значно вища порівняно з жировою тканиною хворих без метастазів.

4. Одержані дані можуть бути використані при оцінці прогнозу перебігу і формуванні терапевтичних підходів до лікування хворих на КРР.

Робота виконана частково за підтримки відомчої тематики “Дослідити особливості дисфункціонального стану жирової тканини, які формують метастатичний потенціал та визначають перебіг пухлинного процесу” (№ держреєстрації 0120U105603) та гранту № 217/0039.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- DeVallance E, Li Y, Jurczak MJ, *et al.* The role of NADPH oxidases in the etiology of obesity and metabolic syndrome: contribution of individual isoforms and cell biology. *Antioxid Redox Signal* 2019; **31** (10): 687–709. doi: 10.1089/ars.2018.7674.
- Galal YS, Amin TT, Alarfaj AK, *et al.* Colon cancer among older Saudis: Awareness of risk factors and early signs, and perceived barriers to screening. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2016; **17** (4): 1837–46. doi: 10.7314/apjcp.2016.17.4.1837.
- Lee H. Obesity-associated cancers: evidence from studies in mouse models. *Cells* 2022; **11** (9): 1472. doi: 10.3390/cells11091472.
- Habanjar O, Diab-Assaf M, Caldefie-Chezet F, *et al.* The impact of obesity, adipose tissue, and tumor microenvironment on macrophage polarization and metastasis.

- Biology (Basel)* 2022; **11** (2): 339. doi: 10.3390/biology11020339.
- Chen Y, Wu Z, Huang S, *et al.* Adipocyte IRE1 α promotes PGC1 α mRNA decay and restrains adaptive thermogenesis. *Nat Metab* 2022; **4**: 1166–84. <https://doi.org/10.1038/s42255-022-00631-8>.
- Lulli M, Napoli C, Landini I, *et al.* Role of non-coding RNAs in colorectal cancer: focus on long non-coding RNAs. *Int J Mol Sci* 2022; **23** (21): 13431. doi: 10.3390/ijms232113431.
- Cirillo F, Catellani C, Sartori C, *et al.* Obesity, insulin resistance, and colorectal cancer: could miRNA dysregulation play a role? *Int J Mol Sci* 2019; **20** (12): 2922. doi: 10.3390/ijms20122922.
- Mohajan D, Mohajan HK. Body Mass Index (BMI) is a popular anthropometric tool to measure obesity among adults. *J Innov Med Res* 2023; **2**: 25–33.
- WHO Mean Body Mass Index (BMI). World Heal Organ Retrieved 5 <https://www.who.int/europe/newsroom/factsheets/item/a-healthy-lifestyle---who-recommendations> 2019.
- Shlyakhovenko V, Samoilenko O. Photopolymerization with EDTA and Riboflavin for Proteins Analysis in Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *Protein J* 2022; **41** (4–5): 438–43. doi: 10.1007/s10930-022-10068-3.
- Sakakibara R, Hashida K, Kitahara T, *et al.* Characterization of a unique nonsecretory ribonuclease from urine of pregnant women. *J Biochem* 1992; **111** (3): 325–30. doi: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a123757.
- Barrabés S, Pagès-Pons L, Radcliffe CM, *et al.* Glycosylation of serum ribonuclease 1 indicates a major endothelial origin and reveals an increase in core fucosylation in pancreatic cancer. *Glycobiology* 2007; **17** (4): 388–400. doi: 10.1093/glycob/cwm002.
- Thomas JM, Crisp M, Hodes ME. Sialic acid residues contribute to the heterogeneity of human serum ribonuclease: demonstration by isoelectric focusing and neuraminidase treatment of serum. *Clin Chim acta* 1984; **142** (1): 73–81. doi: 10.1016/0009-8981(84)90102-5.
- Mizuta K, Awazu S, Yasuda T, *et al.* Purification and characterization of three ribonucleases from human kidney: comparison with urine ribonucleases. *Arch Biochem Biophys* 1990; **281** (1): 144–51. doi: 10.1016/0003-9861(90)90424-w.
- Beintema JJ, Blank A, Schieven GL, *et al.* Differences in glycosylation pattern of human secretory ribonucleases. *Biochem J* 1988; **255**: 501.
- Landré JBP, Hewett PW, Olivot J-M, *et al.* Human endothelial cells selectively express large amounts of pancreatic-type ribonuclease (RNase 1). *J Cell Biochem* 2002; **86** (3): 540–52. doi: 10.1002/jcb.10234.
- Taniguchi N, Kizuka Y. Glycans and cancer: role of N-glycans in cancer biomarker, progression and metastasis, and therapeutics. *Adv Cancer Res* 2015; **126**: 11–51. doi: 10.1016/bs.acr.2014.11.001.
- Barrabés S, Sarrats A, Fort E, *et al.* Effect of sialic acid content on glycoprotein pI analyzed by two-dimensional electrophoresis. *Electrophoresis* 2010; **31** (17): 2903–12. doi: 10.1002/elps.200900764.
- Acquati F, Bertilaccio S, Grimaldi A, *et al.* Microenvironmental control of malignancy exerted by RNASET2, a widely conserved extracellular RNase. *Proc Natl Acad Sci* 2011; **108** (3): 1104–9. doi: 10.1073/pnas.1013746108.
- Vanli N, Sheng J, Li S *et al.* Ribonuclease 4 is associated with aggressiveness and progression of prostate cancer. *Commun Biol* 2022; **5** (1): 625. doi: 10.1038/s42003-022-03597-1.
- Osborn NK, Ahlquist DA. Stool screening for colorectal can-

- cer: molecular approaches. *Gastroenterology* 2005; **128** (1): 192–206. doi: 10.1053/j.gastro.2004.10.041.
22. **Traverso G, Shuber A, Levin B, et al.** Detection of APC mutations in fecal DNA from patients with colorectal tumors. *N Engl J Med* 2002; **346** (5): 311–20. doi: 10.1056/NEJMoa012294.
 23. **Bosch LJW, Carvalho B, Fijneman RJA, et al.** Molecular tests for colorectal cancer screening. *Clin Colorectal Cancer* 2011; **10** (1): 8–23. doi: 10.3816/CCC.2011.n.002.
 24. **Koga Y, Yasunaga M, Takahashi A, et al.** MicroRNA expression profiling of exfoliated colonocytes isolated from feces for colorectal cancer screening. *Cancer Prev Res* 2010; **3** (11): 1435–42. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0036.
 25. **Link A, Balaguer F, Shen Y, et al.** Fecal MicroRNAs as novel biomarkers for colon cancer screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; **19** (7): 1766–74. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0027.
 26. **Wang J-Y, Wu C-H, Lu C-Y, et al.** Molecular detection of circulating tumor cells in the peripheral blood of patients with colorectal cancer using RT-PCR: significance of the prediction of postoperative metastasis. *World J Surg* 2006; **30** (6): 1007–13. doi: 10.1007/s00268-005-0485-z.
 27. **Shen C, Hu L, Xia L, Li Y.** Quantitative real-time RT-PCR detection for Survivin, Ck20 and CEA in peripheral blood of colorectal cancer patients. *Jpn J Clin Oncol* 2008; **38** (11): 770–6. doi: 10.1093/jjco/hyn105.
 28. **Dandachi N, Balic M, Stanzer S, et al.** Critical evaluation of real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction for the quantitative detection of cytokeratin 20 mRNA in colorectal cancer patients. *J Mol Diagnostics* 2005; **7** (5): 631–7. doi: 10.1016/S1525-1578(10)60597-1.
 29. **Huang Z, Huang D, Ni S, et al.** Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. *Int J cancer* 2010; **127** (1): 118–26. doi: 10.1002/ijc.25007.

MOLECULAR HETEROGENEITY OF RIBONUCLEASE OF FAT TISSUE OF PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER

**V.O. Shlyakhovenko, I.I. Ganusevich,
O.A. Samoylenko, A.V. Verbinenko**

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

Summary. Aim: to investigate the molecular heterogeneity of ribonucleases (RNases) of adipose tissue in patients with colorectal cancer (CRC) with or without metastases.

Objects and methods: the study was performed with adipose tissue obtained from patients with CRC who were being treated in the surgical department of the National Cancer Institute. Adipose tissue from CRC patients with metastases and without metastases was studied. To analyze the heterogeneity of RNases, the technique of enzymograms with quantitative assessment of activity in the GelAnalyzer program was used. **Results:** it was revealed that RNases of adipose tissue reveal significant molecular

heterogeneity, which is more pronounced in patients with CRC with a metastatic process. From 2 to 6 isoforms of the enzyme are registered in the enzymograms of patients with metastases. The RNases activity in adipose tissue of patients with CRC with metastases is significantly higher than in patients without metastases. **Conclusion:** the obtained data can be used in the assessment of the course prognosis and the formation of therapeutic approaches to the treatment of patients with colorectal cancer.

Keywords: colorectal cancer, adipose tissue, RNase, metastases, electrophoresis.

Адреса для листування:

Шляховенко В.О.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України
E-mail: doctorvlad38@gmail.com

Одержано: 04.07.2023