

А.П. Бурлака¹
 А.В. Вовк¹
 А.А. Бурлака²
 В.В. Звірич²
 С.М. Лукін¹
 С.В. Вірко¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

²Національний інститут раку, МОЗ України, Київ, Україна

Ключові слова:

колоректальний рак, ожиріння, метастазування, оксид азоту, супероксидні радикали, вільні жирні кислоти.

МЕТАБОЛІЗМ ПРИЛЕГЛОЇ ДО ПУХЛИНИ ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ ТА МАСА ТІЛА ХВОРИХ НА КОЛОРЕКТАЛЬНИЙ РАК III–IV СТАДІЇ

Жирова тканина, в оточенні якої розвиваються солідні пухлини (особливо за наявності ожиріння), може бути одним із факторів мікрооточення з пропухлинними властивостями. **Мета:** дослідити рівні оксиду азоту (NO) та супероксидних радикалів (СР) у прилеглій до пухлини жировій тканині (ППЖТ), а також концентрацію вільних жирних кислот (ВЖК) в крові хворих на колоректальний рак (КРР) III–IV стадії залежно від маси тіла пацієнтів, ступеня диференціювання пухлини, об'єму метастазів (М) у печінці. **Об'єкт і методи:** зразки ППЖТ хворих на КРР з ожирінням (індекс маси тіла (ІМТ) > 25; n = 84) та без його ознак (ІМТ < 25; n = 47). За контроль (нормальна жирова тканина — НЖТ) вважали матеріал від 18 пацієнтів з доброякісними новоутвореннями. Швидкість генерування СР мітохондріями та рівень NO в зразках жирової тканини визначали методом електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) при кімнатній температурі та низькотемпературному режимі з використанням відповідних спінових уловлювачів. Вміст ВЖК у крові визначали спектрофотометричним методом при $\lambda = 546$ нм. **Результати:** активність FeS-білків електронно-транспортного ланцюга (ЕТЛ) мітохондрій у ППЖТ хворих на КРР (ІМТ > 25) була достовірно вищою порівняно з такою в НЖТ; рівень убісеміхінону в ППЖТ в 11 разів перевищував показник НЖТ. У ППЖТ виявлено також зростання рівня активності молібденвмісних ферментів, що свідчить про накопичення в ній токсичних продуктів розпаду пуринів та альдегідів. Рівень СР у ППЖТ хворих на КРР з ІМТ > 25 був у 5,6 та 1,3 рази вищим, ніж в НЖТ та у хворих без ожиріння відповідно. Рівень NO в ППЖТ хворих з ІМТ > 25 був достовірно нижчим, ніж в НЖТ, у ППЖТ хворих без ожиріння не відрізнявся від останнього (p > 0,05). Рівень ВЖК у крові хворих на КРР незалежно від наявності ознак ожиріння перевищував (p < 0,05) даний показник у донорів (ІМТ > 25). В жировій тканині, прилеглій до G1–3-пухлин, рівні NO достовірно не відрізнялися, проте були нижчими порівняно з НЖТ (p < 0,05). У хворих з морбідним ожирінням (ІМТ > 40) середній об'єм М був достовірно більшим (p < 0,05), ніж у хворих з ІМТ < 40. **Висновки:** вираженість та напрямок змін низки характеристик жирової тканини хворих на КРР III–IV стадії (спектри ЕПР ППЖТ, рівні NO та СР, концентрація ВЖК у крові) мають незаперечний зв'язок із масою тіла пацієнтів: за наявності різних ступенів ожиріння метаболічні порушення збільшуються. У пацієнтів з морбідним ожирінням відмічали найбільший об'єм М у печінці. З урахуванням одержаних результатів селективного NO-залежного регулювання транспорту електронів у ЕТЛ мітохондрій, зокрема в ППЖТ, для впливу на витрату енергії може бути ефективною складовою в стратегії лікування пацієнтів із КРР.

На сьогодні одним з обговорюваних факторів ризику розвитку колоректального раку (КРР) є ожиріння, частота виникнення якого зростає [1–3]. Ожиріння — це патологічне накопичення гіпертрофованих адипоцитів, яке може бути несприятливим чинником формування хіміорезистентності пухлинних клітин і прогресування злоякісного новоутво-

рення (локальні рецидиви, метастазування) [4, 5]. Критичною молекулою, яка впливає на пухлинну прогресію, є оксид азоту (NO). NO — вільний багатифункціональний радикал: пошкоджує ДНК, пригнічує ферменти репарації ДНК, регулює апоптоз і метастазування [3, 6]. Рівень NO у тканинах, а відтак, і його пропухлинні ефекти пов'язані з актив-

ністю NO-генеруючих ферментів як в пухлині, так і в пухлинному мікрооточенні [7–9]. Висока розчинність NO у жировій тканині (ЖТ) сприяє впливу цієї сполуки на клітини інших тканин, включаючи пухлинну, може забезпечувати формування дисфункції клітин і призводити до пухлинної прогресії [10, 11]. Неконтрольована проліферація пухлинних клітин вимагає значного зрушення в обміні речовин, щоб забезпечувати більш високі темпи росту, перенаправляючи поживні речовини в анаболічні шляхи для підтримки виробництва біомаси. Для виживання в несприятливому пухлинному мікрооточенні клітини повинні знайти баланс між анаболічними вимогами та катаболічним виробництвом енергії [12, 13].

Низка важливих складових пухлинного процесу (проліферація, ангиогенез, метастазування) тісно пов'язані з функціонуванням NO і супероксидних радикалів (СР). У клітинах та тканинах СР генеруються в основному мітохондріями і НАДФН-оксидазами (NOX), а NO — NO-синтазами (NOS). Радикальні форми кисню та радикальні форми NO мають високу метаболічну активність і можуть підтримувати агресивний фенотип пухлин. Особливістю пухлинних клітин є здатність підтримувати кількість СР та NO на рівнях, які перевищують норму, але не викликають їх загибелі. Пухлини, продукуючи СР, NO та інші прооксиданти, тим самим впливаючи на прилеглі тканини (зокрема ЖТ), можуть викликати окисні пошкодження та змінювати їх редокс-стан [14–17].

Метою роботи було дослідити рівні NO та СР в прилеглих до пухлини ЖТ (ППЖТ), а також концентрацію вільних (неетерифікованих) жирних кислот (ВЖК) у крові хворих на КРР III–IV стадії залежно від маси тіла пацієнтів, ступеня диференціювання пухлини, об'єму метастазів (М) у печінці.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на зразках ППЖТ 131 хворого на КРР III–IV стадії (73 — III, 58 — IV стадія захворювання). Кількість чоловіків становила 68, жінок — 63. Вік обстежених хворих — $59,2 \pm 2,8$ року. Усім хворим виконували хірургічне лікування у Національному інституті раку у період 2015–2018 рр. Пацієнти отримували поліхіміотерапію згідно із затвердженими міжнародними та вітчизняними стандартами, а також клінічними протоколами на період проведення досліджень. За контроль — нормальну ЖТ (НЖТ) — вважали біопсійний матеріал від 18 пацієнтів із доброякісними новоутвореннями (поліпозом кишечника) зіставного з основною групою віку. Досліджено зразки крові 64 хворих на КРР та 17 здорових донорів. Усі залучені у дослідження особи дали інформовану згоду на участь та використання їхніх біологічних матеріалів у дослідницьких цілях.

Наявність ожиріння у хворих на КРР визначали шляхом підрахунку та інтерпретації індексу маси тіла (ІМТ) [18]. ІМТ ≤ 16 — дефіцит маси

тіла; від 16,0 до 18,5 — недостатня маса тіла; від 18,5 до 24,9 — нормальна маса тіла; від 25,0 до 30,0 — зайва маса тіла (передожиріння); від 30,0 до 35,0 — ожиріння I ступеня; від 35 до 40 — ожиріння II ступеня; 40 і вище — ожиріння III ступеня. Залежно від ІМТ всіх обстежених розподілили на 2 групи: з ІМТ > 25 (наявність зайвої маси тіла) — 84 (43 чоловіки, 41 жінка), з ІМТ < 25 (без ознак ожиріння) — 47 (25 чоловіків, 22 жінки).

Об'єм М обчислювали на основі даних комп'ютерної та магнітно-резонансної томографії.

Швидкість генерування СР мітохондріями в зразках ЖТ визначали методом електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) з використанням спінового уловлювача TEMPONE-H (2,2,6,6-тетраметил-4-оксипіперидин) (Sigma, USA) при кімнатній температурі. Рівень NO досліджували методом ЕПР у низькотемпературному режимі з використанням діетилдитіокарбамату (Sigma, USA) як спінового уловлювача [19]. Спектри ЕПР реєстрували при температурі рідкого азоту (77 К) у парамагнітно чистому кварцовому д'юарі на комп'ютеризованому спектрометрі PE-1307 з резонатором H_{011} . Потужність НВЧ-джерела становила 40 мВт, частота модуляції — 100 кГц та амплітуда — 10 Гаус, постійна часу приймача $\tau = 0,3$ с. В якості стандарту інтенсивності використовували спеціально орієнтований зразок монокристалу Al_2O_3 із визначеною концентрацією іонів Cr^{3+} . Методом подвійного інтегрування оцінювали концентрацію молекул, зіставляючи інтенсивність сигналів у спектрах ЕПР з інтенсивністю стандарту. Помилка методу інтегрування спектрів і розкид відтворення спектрів одного зразка становить не більше 3%.

Вміст ВЖК у крові визначали спектрофотометричним методом при $\lambda = 546$ нм (інтенсивність червоного барвника, утвореного при взаємодії перекису водню та сполук Тріндера, прямо пропорційна концентрації ВЖК у зразку) [20].

Результати представлені у вигляді середніх значень зі стандартним відхиленням ($M \pm SE$). Статистичний аналіз проводили із застосуванням прикладних ліцензійних програм GraphPadPrism 6 та Excel. Різницю між показниками вважали достовірною при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На рис. 1 наведено типові спектри ЕПР ППЖТ хворого на КРР з ожирінням (ІМТ > 25) та ЖТ пацієнта з поліпозом кишечника.

Аналіз спектрів ЕПР НЖТ (від пацієнтів із поліпозом кишечника) і ППЖТ хворих на КРР із зайвою масою тіла (ІМТ > 25) показав наявність низки відмінностей між ними. В той час як рівень сигналу ЕПР з $g = 1,94$, який характеризує активність Комплексу I (НАДН-убіхінон-оксидоредуктаза) електронно-транспортного ланцюга (ЕТЛ) мітохондрій, у НЖТ був на рівні фізіологічних енергетичних потреб і становив $0,16 \pm 0,04$ відн. од., в ППЖТ цей

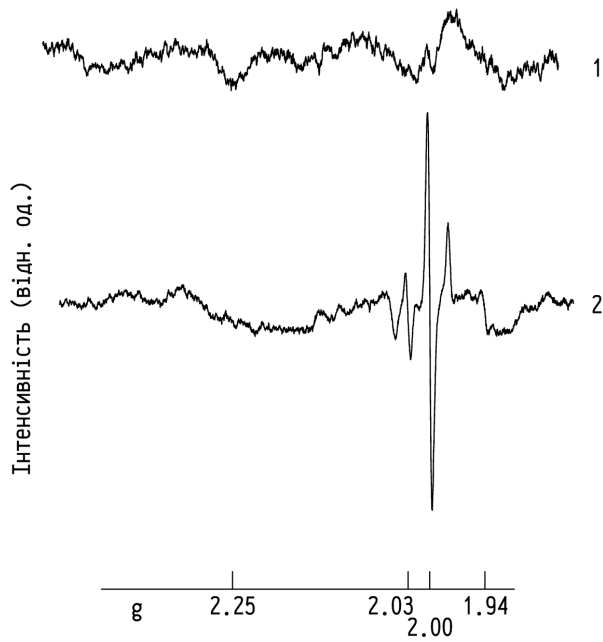


Рис. 1. Спектри ЕПР: 1 — НЖТ; 2 — ППЖТ хворого на КРР (ІМТ > 25)

показник сягав $0,29 \pm 0,08$ відн. од. Зростання активності Комплексу I відбувається за рахунок компенсаторного зростання рівнів убісеміхінону в Q-циклі Комплексу III (убіхінон-цитохром c-редуктазі). Рівень убісеміхінону в мітохондріях адипоцитів ППЖТ становить $1,26 \pm 0,15$ відн. од., що в 11 разів більше порівняно з НЖТ ($0,11 \pm 0,06$ відн. од., $p < 0,05$), і свідчить про переключення мітохондрій в клітинах ЖТ онкологічних хворих з ожирінням на гліколіз. Це також підтверджується утворенням та зростанням до рівня $0,22 \pm 0,06$ відн. од. вмісту комплексів NO з FeS-білками в Комплексі I. У ППЖТ (див. рис. 1) виявлено також зростання рівнів активності молібденвмісних ферментів — ксантин- та альдегідоксидази ($g = 1,97$), що свідчить про накопичення в ній токсичних продуктів розпаду пуринів та альдегідів. Крім того, в зразках ППЖТ реєструється поява незначних рівнів цитохрому P450 ($g = 2,25$), що також є показником накопичення токсичних продуктів.

На рис. 2 наведено результати дослідження рівнів CP і NO у ППЖТ у хворих на КРР з нормальною масою тіла та ожирінням. Рівні CP у ППЖТ хворих з ІМТ > 25 були максимальними та достовірно перевищували показники в НЖТ ППЖТ хворих без ожиріння (ІМТ 18,5–25) — в 5,6 та 1,3 раза відповідно. Рівень NO в ППЖТ у хворих з ІМТ > 25 був достовірно нижчим порівняно з НЖТ ($0,37 \pm 0,07$ проти $0,59 \pm 0,11$ нмоль/г тканини, $p < 0,05$) (див. рис. 2). У хворих на КРР без ожиріння рівень NO в ППЖТ становив $0,52 \pm 0,14$ нмоль/г тканини, що практично не відрізняється від показників у НЖТ ($p > 0,05$). Зниження рівня NO у хворих з ожирінням зумовлене зниженням NO-продукуючої активності iNOS, яка може регулюватися білок-білковими взаємодіями і посттрансляційними модифікаціями. Пошко-

дужувальний вплив на iNOS та зниження її активності можуть спричинити CP та продукти окиснення ВЖК, окиснюючи кофактор BH_4 (тетрагідробіоптерин) до BH_2 (дигідробіоптерин). Дефіцит BH_4 або високі рівні BH_2 призводять до переключення iNOS із синтезу NO на синтез CP [8]. Жирні кислоти в адипоцитах під впливом CP переокиснюються до токсичних продуктів (малоновий діальдегід і 4-гідроксиноненаль), які можуть пошкоджувати BH_4 . Підвищення рівнів циркулюючих ВЖК (які, окиснюючись, проявляють токсичний вплив на клітини органів, викликаючи мітохондріальну дисфункцію, активацію генерування CP та стеатоз) створює сприятливе мікрооточення для осідання клітин і формування сайтів регіонарного та віддаленого метастазування [5, 11, 21–24]. Виявлено, що рівень ВЖК у крові хворих на КРР (з ІМТ як 18,5–25, так і > 25) перевищував аналогічний контрольний показник донорів з ІМТ > 25 у 3,4 та 6,0 раза відповідно ($p < 0,05$) (рис. 3). Раніше ми встановили, що у крові хворих на діабет 2-го типу виявляються ВЖК на рівні 108 ± 21 μM , що вище за показники у донорів, проте ці значення не досягають показників у хворих на КРР ($p < 0,05$).

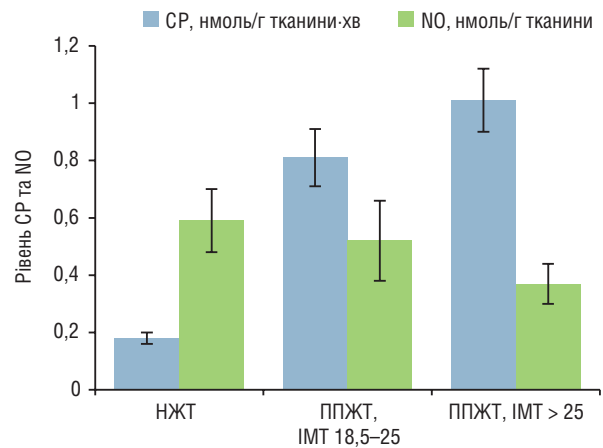


Рис. 2. Рівні CP та NO у НЖТ та ППЖТ хворих на КРР залежно від маси тіла

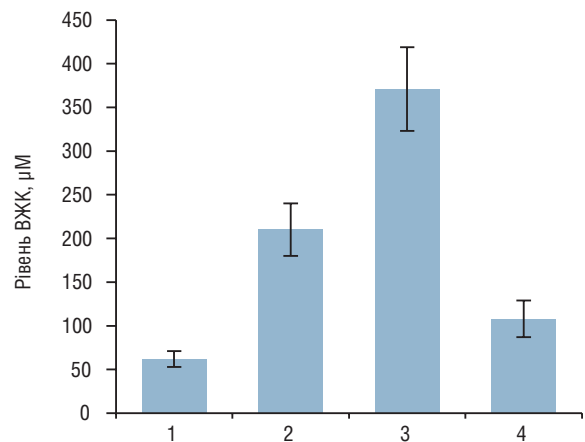


Рис. 3. Концентрація ВЖК у крові: 1 — донорів з ІМТ > 25; 2 — хворих на КРР з ІМТ 18,5–25; 3 — хворих на КРР з ІМТ > 25; 4 — хворих на цукровий діабет 2-го типу з ІМТ > 25

У результаті дослідження рівня NO в ППЖТ залежно від ступеня диференціювання пухлин (рис. 4) виявлено, що в ЖТ, прилеглий до G1–2 та G3-пухлин, досліджуваний показник становив $0,29 \pm 0,04$ та $0,24 \pm 0,05$ нмоль/г тканини ($p > 0,05$). НЖТ характеризувалася достовірно вищими рівнями NO ($0,59 \pm 0,09$ нмоль/г тканини, $p < 0,05$). Таким чином, при КРР в ППЖТ знижується біодоступність NO, практично незалежно від ступеня диференціювання пухлини. Ми припускаємо, що зниження біодоступності NO є наслідком порушення балансу між його генеруванням та деградацією, тобто зменшення рівнів NO у ППЖТ може бути зумовлене зниженням активності iNOS та реакцією NO з CP, рівень яких у ППЖТ зростає [25].

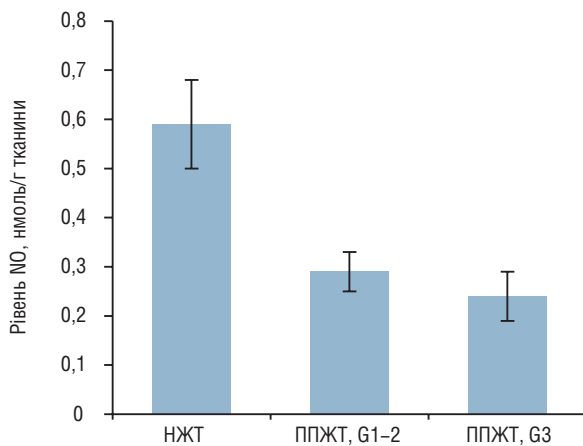


Рис. 4. Рівень NO в ППЖТ хворих на КРР залежно від ступеня диференціювання пухлини

Оскільки ЖТ є компонентом пухлинного мікрооточення і виступає джерелом енергії для проліферуючих клітин, досліджено зв'язок між об'ємом M в печінці та ІМТ у хворих на КРР (рис. 5). У хворих з морбідним ожирінням (ІМТ > 40) середній об'єм M становив $19,75 \pm 5,9$ см³. Об'єм M був достовірно меншим у хворих з ІМТ < 40 : при ІМТ 18,5–24,9 він становив $4,33 \pm 2,6$ см³ ($p < 0,05$), при ІМТ 25–40 — $8,40 \pm 3,7$ см³ ($p < 0,05$).

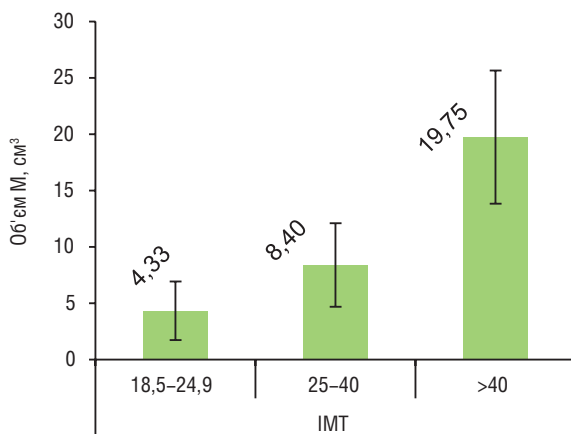


Рис. 5. Об'єм M в печінці у хворих на КРР залежно від ІМТ

Виявлено, що у хворих на КРР з ІМТ > 25 реєстрували більший відносний об'єм заміщення паренхі-

ми печінки пухлинною тканиною та вищий відсоток хворих з максимальним її ураженням. Вважають, що накопичення ЖТ зумовлює локальне зростання рівнів CP у мікрооточенні клітин печінки та створення «ніш» для осідання пухлинних клітин і росту M [5, 15]. Слід підкреслити, що ожиріння в онкологічних хворих відбувається на фоні вже сформованої мітохондріальної дисфункції та високих рівнів генерування CP. Порушення біодоступності NO в адипоцитах призводить до змін його функції регуляції енергетичного обміну. Враховуючи, що в ЖТ зростає рівень CP, це може вплинути на ліпогенез, ліполіз або інші функції адипоцитів. NO, взаємодіючи із залізо-сірчаними білками (FeS-білки) в ЕТЛ мітохондрій, індукуює їх дисфункцію та клітинну гіпоксію шляхом утворення комплексів FeS-білків з NO (NO-FeS-білки). Крім того, гіпоксія-залежним транскрипційним фактором збірки кластера Fe-S-білків ЕТЛ, які функціонують у процесі окисного метаболізму мітохондрій, є мікроРНК miR-210, яка також індукуює генерацію CP та є несприятливим прогностичним фактором [26, 27]. Збільшення маси ППЖТ прямо корелює зі зростанням в ній рівня CP, за допомогою яких вона взаємодіє з пухлиною та віддаленими органами. Фенотип та поведінка клітин тканин, які знаходяться у безпосередньому контакті з пухлиною, залежить від рівнів CP та NO у мікрооточенні пухлини. Клітинна гіпоксія в ЖТ не тільки сприяє активації гліколітичних генів та формуванню гліколітичного фенотипу, а й знижує активність ферментів системи окиснювального фосфорильовання (OXPHOS). Враховуючи все це, можна вважати, що виявлені зміни можуть бути біомаркером дисфункції ЖТ та несприятливого прогнозу перебігу захворювання. Метаболічні ознаки, які відрізняють пухлинні клітини від здорових, є перспективними для терапії. Проте пухлинні клітини мають багато метаболічних ознак, спільних із нормальними клітинами. Слід враховувати і те, що при терапевтичному пошкодженні метаболічних шляхів пухлинні клітини можуть активувати компенсаторні механізми, що дозволяє їм отримати стійкість до відповідних препаратів. Фенотип та поведінка клітин, які знаходяться у безпосередньому контакті з пухлиною, залежать від рівнів CP і NO у пухлинному мікрооточенні. Тобто ППЖТ хворих з ожирінням має вищі рівні CP, що свідчить про запалення та інфільтрацію ЖТ нейтрофілами, продуцентами CP та NO. Такі зміни в мікрооточенні пухлини призводять до дисфункції адипоцитів, що проявляється ліполізом, зниженням синтезу триацилгліцеринів та накопиченням токсичних продуктів окиснення ВЖК [11, 21–23]. Селективне NO-залежне регулювання транспорту електронів в ЕТЛ мітохондрій в клітинах органів (зокрема ЖТ) для впливу на витрату енергії може бути ефективною складовою в стратегії лікування раку. NO є важливим гравцем у цих процесах, виступаючи об'єднувальним молекулярним перемикачем в біогенезі мітохондрій.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що активність FeS-білків ЕТЛ мітохондрій у ППЖТ хворих на КРР (ІМТ > 25) була достовірно вищою порівняно з такою в НЖТ; рівень убісемінону в ППЖТ в 11 разів перевищував показник НЖТ. У ППЖТ хворих на КРР виявлено також зростання рівня активності молібденвмісних ферментів (ксантин- та альдегідоксидази), що свідчить про накопичення в ній токсичних продуктів розпаду пуринів та альдегідів.

2. Виявлено, що рівень СР у ППЖТ хворих на КРР з ІМТ > 25 був в 5,6 та 1,3 раза вищим, ніж в НЖТ та у хворих без ожиріння (ІМТ 18,5–25) відповідно. Рівень NO у ППЖТ хворих з ІМТ > 25 був достовірно нижчий порівняно з НЖТ, у ППЖТ хворих без ожиріння не відрізнявся від такого в НЖТ ($p > 0,05$).

3. Рівень ВЖК у крові хворих на КРР незалежно від маси тіла (при ІМТ як 18,5–25, так і > 25) перевищував даний показник донорів (навіть схильних до ожиріння, ІМТ > 25) — у 3,4 та 6,0 раза відповідно ($p < 0,05$).

4. Встановлено, що в ЖТ, прилеглий до G1–2 та G3-пухлин, рівні NO не відрізнялися ($p < 0,05$), проте були нижчими у 2,0 та 2,5 раза порівняно з НЖТ ($p < 0,05$).

5. У хворих на КРР IV стадії з ІМТ > 40 середній об'єм М в печінці перевищував такий у хворих з ІМТ 18,5–24,9 та 25–40 у 4,6 та 2,4 раза ($p < 0,05$), тоді як між останніми підгрупами достовірної різниці не виявлено.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Berger NA. Young Adult Cancer: Influence of the Obesity Pandemic. *Obesity* 2018; **26** (4): 641–50.
- O'Rourke RW. Obesity and cancer: at the crossroads of cellular metabolism and proliferation. *Surg Obes Relat Dis* 2014; **10** (6): 1208–19.
- Schwartz B, Yehuda-Shnaidman E. Putative role of adipose tissue in growth and metabolism of colon cancer cells. *Front Oncol* 2014; **4**: 164.
- Marseglia L, Manti S, D'Angelo G, et al. Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. *Int J Mol Sci* 2015; **16** (1): 378–400.
- Nieman KM, Romero IL, Van Houten B, et al. Adipose tissue and adipocytes support tumorigenesis and metastasis. *Biochim Biophys Acta* 2013; **1831** (10): 1533–41.
- Burlaka AP, Vovk AV, Ganusevich II, et al. Superoxide- and NO-dependent mechanisms of formation of metastatic microenvironment distant sites of metastasis in patients with colorectal cancer. *Oncology* 2017; **19**: 64–70 (in Ukrainian).
- Cheng H, Wang L, Mollica M, et al. Nitric oxide in cancer metastasis. *Cancer Lett.* 2014; **353** (1): 1–7.
- Burlaka AP, Sidorik EP. Redox-dependent signal molecules in mechanisms of tumor process. Kyiv: Naukova Dumka, 2014. 255 p. (in Ukrainian).
- Pérez S, Taléns-Visconti R, Rius-Pérez S, et al. Redox signaling in the gastrointestinal tract. *Free Radic Biol Med* 2017; **104**: 75–103.
- Sansbury BE, Hill BG. Regulation of obesity and insulin resistance by nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 2014; **73**: 383–99.
- Fukumura D, Incio J, Shankaraiiah RC et al. Obesity and cancer: an angiogenic and inflammatory link. *Microcirculation* 2016; **23** (3): 191–206.

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

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

14. Smith SR, Wilson PW. Free fatty acids and atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; **91**: 2506–8.

15. Rizi BS, Achreja A, Nagrath D. Nitric oxide: the forgotten child of tumor metabolism. *Trends Cancer* 2017; **3** (9): 659–72.

16. da Costa RM, Fais RS, Dechandt CR, et al. Increased mitochondrial ROS generation mediates the loss of the anti-contractile effects of perivascular adipose tissue in high-fat diet obese mice. *Br J Pharmacol* 2017; **174** (20): 3527–41.

17. Harmey JH, Bucana CD, Lu W, et al. Lipopolysaccharide-induced metastatic growth is associated with increased angiogenesis, vascular permeability and tumor cell invasion. *Int J Cancer* 2002; **101**: 415–22.

18. Ortega ÁL, Mena S, Estrela JM. Oxidative and nitrosative stress in the metastatic microenvironment. *Cancers* 2010; **2**: 274–304.

19. Panieri E, Santoro MM. ROS homeostasis and metabolism: a dangerous liason in cancer cells. *Cell Death and Disease* 2016; **7**: e2253.

20. Saha SK, Lee SB, Won J, et al. Correlation between oxidative stress, nutrition, and cancer initiation. *Int J Mol Sci* 2017; **18**: 1544–57.

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

22. Xia N, Forstermann U, Li H. Effects of resveratrol on eNOS in the endothelium and the perivascular adipose tissue. *Ann NY Acad Sci* 2017; **1403**: 132–41.

23. Kang YM, Kim F, Lee WJ. Role of NO/VASP signaling pathway against obesity-related inflammation and insulin resistance. *Diabetes Metab J* 2017; **41**: 89–95.

24. Melnyk I, Korourian I, Levy JW, et al. Effects of obesity on pro-oxidative conditions and DNA damage in liver of DMBA-induced mammary carcinogenesis models. *Metabolites* 2017; **7** (26).

25. Burlaka AP, Ganusevich II, Vovk AV, et al. The redox-state of adipose tissue: effect on the microenvironment and progression of gastric cancer. *Oncology* 2017; **19** (2): 118–24 (in Ukrainian).

26. Lin J, Chuang C, Zuo L. Potential roles of microRNAs and ROS in colorectal cancer: diagnostic biomarkers and therapeutic targets. *Oncotarget* 2017; **8** (10): 17328–46.

27. He J, Jiang BH. Interplay between reactive oxygen species and microRNAs in cancer. *Curr Pharmacol Rep* 2016; **2**(2): 82–90.

METABOLISM OF ADJACENT ADIPOSE TISSUE AND BODY MASS OF THE PATIENTS WITH STAGE III–IV COLORECTAL CANCER

A.P. Burlaka¹, A.V. Vovk¹, A.A. Burlaka²,
V.V. Zvirych², S.M. Lukin¹, S.V. Virko¹

¹R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine

²National Cancer Institute, MH of Ukraine,
Kyiv, Ukraine

Summary. Obesity is a pathological accumulation of hypertrophied adipocytes, which may be an unfavorable factor in the formation of tumor cell chemo-resistance and the progression of malignant neoplasms (local relapses, metastases). A critical molecule that influences the growth and metastasis of tumors is nitric oxide

(NO), which can damage DNA, suppress the DNA repair enzymes, regulate apoptosis and metastasize. Proliferation of tumor cells, angiogenesis, metastases are closely related to the functioning of NO and superoxide radicals (SR). **Objective:** to investigate the levels of NO and SR in adjacent adipose tissue (AAT), as well as the concentration of free (un-esterified) fatty acids (FFA) in the blood of patients with colorectal cancer (CC) stage III–IV, depending on the weight of the patient's body, degree tumor differentiation, volume of metastases (M) in the liver. **Object and methods:** samples of AATs of patients with CC of the III–IV stage with obesity (body mass index (BMI) > 25; n = 84) and without its signs (BMI < 25; n = 47). For control (normal adipose tissue — NAT) considered the material from 18 patients with benign neoplasms. The rate of generation of SR by mitochondria and the NO level in the samples of the adipose tissue were determined by the method of electron paramagnetic resonance (EPR) at room temperature and at low temperature using appropriate spin traps. The content of FFA in blood was determined by spectrophotometric method at $\lambda = 546 \text{ nm}$. **Results:** the activity of FeS-proteins of the electron transport chain (ETC) of mitochondria in the AATs of patients with CC (BMI > 25) was significantly higher compared to that in NAT; the level of ubiquinone in AAT was 11 times higher than that of NAT. An increase in the level of activity of molybdenum-containing enzymes (xanthine and aldehyde oxidase) was also observed in AATs of patients with CC, indicating accumulation of toxic products of decomposition of purines and aldehydes in it. The level of SR in AAT patients with CC with BMI > 25 was 5.6 and 1.3 times higher than in the NAT and in patients without obesity (BMI 18.5–25), respectively. The level of NO in AAT patients with BMI > 25 was significantly lower in comparison with NAT, in AAT of patients with-

out obesity did not differ from such in NAT ($p > 0.05$). The level of FFA in the blood of patients with CC, regardless of the presence of signs of obesity (with BMI 18.5–25 and > 25), exceeded this indicator in donors (BMI > 25) by 3.4 and 6.0 times, respectively ($p < 0.05$). In the adipose tissue, adjacent to the G1–2- and G3-tumors, NO levels were significantly different, however, they were lower in 2.0 and 2.5 times than in NAT ($p < 0.05$). In patients with morbid obesity (BMI > 40) the average volume of M was $19.75 \pm 5.9 \text{ cm}^3$. Volume M was significantly lower in patients with BMI < 40: at BMI 18.5–24.9 was $4.33 \pm 2.6 \text{ cm}^3$, with BMI 25–40 — $8.40 \pm 3.7 \text{ cm}^3$. **Conclusions:** the severity and direction of changes in a number of characteristics of the adipose tissue of patients with CC of III–IV stage (spectra of AAT EPR, NO and SR levels in AAT compared with NAT, the concentration of FFA in blood) has an indisputable link with the weight of patients: in the presence of different degrees of obesity metabolic disorders increase. In patients with morbid obesity, the largest volume of M in the liver was observed. Based on the results obtained, selective NO-dependent regulation of ETC in mitochondria, in particular, in AAT, to influence energy expenditure can be an effective component in the strategy of treatment of patients with CC.

Key Words: colorectal cancer, obesity, metastasis, nitric oxide, superoxide radicals, free fatty acids.

Адреса для листування:

Бурлака А.П.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

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

E-mail: apburlaka@gmail.com

Одержано: 13.06.2018