

А.П. Бурлака¹
 А.А. Бурлака²
 І.І. Ганусевич¹

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

²Національний інститут раку МОЗ України, Київ, Україна

Ключові слова: колоректальний рак, жирова тканина, нейтрофіли, тромбоцити, супероксидні радикали, матриксні металопротеїнази.

РЕДОКС-ЗАЛЕЖНІ ОСОБЛИВОСТІ ПУХЛИН, ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ, НЕЙТРОФІЛІВ І ТРОМБОЦИТІВ У ХВОРИХ НА КОЛОРЕКТАЛЬНИЙ РАК

Мета: дослідження особливостей генерування супероксидних радикалів (СР), вмісту активних форм оксиду азоту (NO), вільних жирних кислот, активності матриксних металопротеїназ-2 і -9 (або желатиназ) у клітинах пухлинної та жирової тканини, а також в нейтрофілах і тромбоцитах крові хворих на колоректальний рак за надмірної маси тіла. **Об'єкт і методи:** використано методи спектрометрії електронного парамагнітного резонансу, зимографії у поліакриламідному гелі, біохімічні, спектрофотометричні та статистичні. **Результати:** виявлено, що накопичення дисфункціональної жирової тканини в організмі хворого спричиняє наростання швидкості генерування СР в пухлині, супероксид-генеруючу активність нейтрофілів і тромбоцитів, активність матриксних металопротеїназ. **Висновки:** порушення рівноваги у редокс-стані нейтрофілів і тромбоцитів, викликане нерегульованим генеруванням СР, гіперліпідемія і активація матриксних металопротеїназ за умови надмірної маси тіла, модифікуючи мікрооточення пухлинних клітин, надає їм фенотипу, що характеризується високою інвазивністю та агресивністю, а також зумовлює метастазування через підвищення ефективності дисемінації пухлинних клітин.

Серед факторів ризику розвитку колоректального раку (КРР) — ожиріння, куріння, підвищене споживання алкоголю, червоного м'яса та крохмалю, незначна частка в раціоні фруктів та овочів. Гемове залізо в таких продуктах, як червоне м'ясо, спричиняє підвищення швидкості пошкодження ДНК, діючи як прооксидант, що підвищує окиснювальний стрес у клітинах [1]. Останні дані свідчать про те, що саме антиоксидантна активність, а не вміст кожної з антиоксидантних речовин, є визначальним фактором ризику виникнення КРР. Протягом останнього десятиліття була ретельно вивчена роль активних форм кисню (АФК) у канцерогенезі [2]. В умовах неконтрольованої продукції АФК у поєднанні зі зниженням активності клітинних антиоксидантних ферментних систем, як АФК, так і їх похідні можуть вступати в реакцію з макромолекулами клітини, що призводить до модуляції експресії генів. Стало очевидним, що вільнорадикальний оксид азоту NO діє як трансклітинний посередник, що бере участь у багатьох фізіологічних і патологічних процесах. Слід підкреслити, що NO також зв'язується з Fe²⁺ з високою спорідненістю (вільне залізо, залізо в залізо-сірчаных центрах, залізо-гем) [3]. Зв'язування NO-заліза гему фактично опосередковує різні біологічні процеси, такі як релаксація гладких м'язів, нейромедіація,

пригнічення агрегації та адгезії тромбоцитів. Переривання кровопостачання в жировій тканині (ЖТ) з подальшим повним або частковим відновленням кровотоку в умовах хірургічної резекції пухлини призводить до ішемічно-реперфузійного окисного пошкодження ЖТ. Цей стан також пов'язаний із хронічним запаленням в тканинах, які піддалися хірургічному стресу.

На основі цих припущень ми провели дослідження особливостей генерування супероксидних радикалів (СР), вмісту активних форм оксиду азоту (NO), вільних жирних кислот (ВЖК), активності матриксних металопротеїназ-2 і -9 (ММП-2 і -9, або желатиназ) у тканині пухлин, ЖТ, нейтрофілах і тромбоцитах пацієнтів з КРР з нормальною масою тіла та з ожирінням.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліджено зразки тканин пухлини, прилеглої до пухлини ЖТ та крові 67 хворих на КРР I–II (27 хворих) та III–IV стадій (40 хворих), кількість жінок та чоловіків з КРР становила відповідно 24 та 43, середній вік пацієнтів — 58,2 ± 4,3 року. Діагноз, стадію та наявність метастазів верифіковано відповідно до вимог доказової медицини (морфологічно та під час відповідного клініко-інструментального обстеження). Серед досліджених пацієнтів 39 не мали

зайвої маси тіла (індекс маси тіла (ІМТ) <25), 28 — були з надмірною масою тіла (ІМТ ≥25). ЖТ відпрепарували на відстані 3–5 см від первинної пухлини. У 22% пацієнтів рівень тромбоцитів становив $220 \pm 49 \cdot 10^9/\text{л}$, у 78% хворих виявлено тромбоцитоз — $410 \pm 66 \cdot 10^9/\text{л}$. У якості контролю слугували зразки крові та тканини 18 хворих на виразкову хворобу кишечника.

Пацієнти перебували на лікуванні в Національному інституті раку МОЗ України. Хворі не отримували передопераційного лікування. Усі дослідження виконували за інформованою згодою пацієнтів відповідно до принципів проведення біомедичних досліджень, що викладені в Гельсінській декларації Всесвітньої медичної асоціації (World Medical Association — WMA).

Використано методи електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) за температури рідкого азоту та технології Spin Traps, зимографії в поліакриламідному гелі, біохімічні спектрофотометричні, статистичні. Нейтрофіли виділяли з венозної крові на розчині трилону Б (3%) за стандартною методикою на градієнті щільності фікол/верографін. Тромбоцити отримували з венозної крові стандартним лабораторним методом.

Визначення та інтерпретація ІМТ. ІМТ — показник, що дозволяє оцінити ступінь відповідності маси тіла людини її зросту і таким чином визначити, чи є його маса тіла недостатньою, нормальною або зайвою. Широко використовується в клінічній практиці з метою корекції методів лікування.

ІМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$) розраховували за формулою [4]:

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

де:

m — маса тіла в кілограмах;

h — зріст у метрах.

Таблиця 1

Інтерпретація показників ІМТ
(відповідно до рекомендацій ВООЗ, 2006)

ІМТ, $\text{кг}/\text{м}^2$	Співвідношення маси тіла та зросту людини
≤16,0	Виявлений дефіцит маси тіла
16,0–18,5	Недостатня маса тіла
18,5–24,9	Нормальна маса тіла
25,0–29,9	Зайва маса тіла (передожиріння)
30,0–34,9	Ожиріння I ступеня
35,0–39,9	Ожиріння II ступеня
≥40,0	Ожиріння III ступеня (морбідне)

Визначення активності ММП. В отриманих зразках визначали активність ММП-2 та -9 методом зимографії в поліакриламідному гелі (із додаванням желатину в якості субстрата) на основі SDS-електрофорезу білків [5]. 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», США) і відповідала молекулярній масі кожного із ферментів (72 та 92 kDa відповідно). Оцінку протеолітичної активності проводили шляхом вимірювання площі зони лізису, використову-

ючи для порівняння стандартний набір ММП-2 і ММП-9 («Sigma», США). 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.

Методи ЕПР-спектрометрії. 1 г тканини (пухлинної або жирової) гомогенізували з використанням подрібнювача з отворами сітки діаметром 0,2 мм. З гомогенатів ЖТ готували зразки для дослідження методом ЕПР. Рівні генерування СР та NO' вимірювали за технологією Spin Traps (уловлювача радикалів) [6]. Для вимірювання рівнів NO готували зразки за допомогою спеціальної прес-форми та низькотемпературної стабілізації. Рівні комплексів NO реєстрували методом ЕПР-спектрометрії за температури рідкого азоту (77 °К) у парамагнітно чистому кварцовому д'юарі. У якості незалежного стандарту інтенсивності було використано спеціально орієнтований монокристал рубіну з відомою кількістю парамагнітних центрів [6]. Інтенсивність стандарту прийнято за 1 відн. од. вимірювань.

Дослідження O_2 -генеруючої активності нікотин амідаденіндинуклеотидфосфат(НАДФ)·Н-оксидази нейтрофілів проводили методом ЕПР-спектроскопії з використанням спінового уловлювача 1-гідрокси-2,2,6,6-тетраметил-4 оксипіперидину («Sigma», США) за кімнатної температури. Визначення NO, генерованого iNOS нейтрофілів, виконували методом ЕПР та за технологією Spin Traps за температури 77 °К. У якості спінового уловлювача застосовували диетилдитіокарбамат («Sigma», США) [6].

Для визначення вмісту ВЖК у плазмі крові пацієнтів використано відповідні набори реагентів («Sigma», США). Вміст ВЖК визначали спектрофотометричним методом за $\lambda = 546$ нм (інтенсивність червоного барвника).

Статистичні методи. Статистичну обробку даних проводили з використанням методів варіаційної статистики із застосуванням програм «STATISTICA8.0» та «Prism 4.0». Вірогідність відмінностей між показниками оцінювали, використовуючи t -критерій Стьюдента. Статистична значущість прийнята за $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На рис. 1а продемонстровано підвищену швидкість утворення СР у пухлинній тканині порівняно з такою в тканині кишечника пацієнтів з виразкою (група порівняння). Крім того, швидкість утворення вільних радикалів у тканині КРР підвищувалася у пацієнтів з ІМТ ≥25 $\text{кг}/\text{м}^2$ порівняно з такою у хворих із зайвою масою тіла (ІМТ ≤25 $\text{кг}/\text{м}^2$). Отже, збільшення маси ЖТ, вірогідно, супроводжується більш інтенсивним утворенням СР у пухлинній тканині. Відомо, що підвищена доступність ліпідів і вуглеводів при ожирінні поєднується зі збільшенням потреби в енергії з активацією ланцюга транспорту електронів у мітохондріях, використанням кисню та утворенням вільних радикалів [7, 8]. Під час аналізу

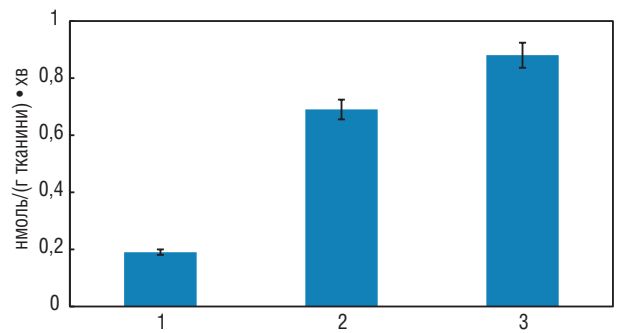
показників NO в пухлинній тканині пацієнтів з КРР було помічено таку ж тенденцію в асоціації з ожирінням, як і при дослідженні швидкості утворення вільних радикалів, хоча й статистично незначущу (рис. 1б). Це узгоджується з даними про зв'язок між ожирінням і рівнями NO, а також про порушення регуляції системи NO-синтази, продемонстрованими в інших дослідженнях [9, 10].

Показники генерування СР у ЖТ пацієнтів з КРР з ожирінням або без нього були аналогічними показникам у пухлинній тканині (рис. 2а). А саме, швидкість генерації вільних радикалів у ЖТ збільшувалася у хворих з ІМТ ≥ 25 кг/м² порівняно з такою у пацієнтів з ІМТ ≤ 25 кг/м². Цей факт свідчить про окислювальний стрес у пацієнтів з КРР. Тенденція до зміни рівня NO у ЖТ пацієнтів з КРР щодо наявності ожиріння була зворотною. У пацієнтів з ІМТ ≥ 25 кг/м² рівень NO був нижчим, ніж у хворих на КРР з нормальною масою тіла (рис. 2б). Це можна пояснити зниженою біодоступністю NO через продукцію пероксинітриду (ONOO⁻) та ефектами ендогенних інгібіторів (таких як диметиларгінін), що, як відомо, підвищуються у людей з ожирінням [11].

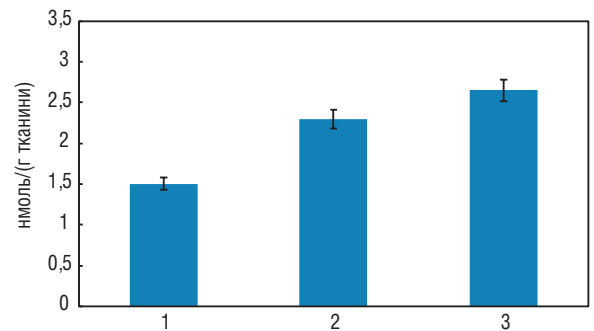
Під час оцінки активності генерації супероксиду в нейтрофілах пацієнтів з КРР встановлено, що цей показник приблизно в 7 разів перевищує аналогічні значення у крові пацієнтів з виразкою (рис. 3а). Проте активність генерації супероксиду не залежала від маси тіла пацієнтів (див. рис. 3а). Рівень NO, що продукується нейтрофілами, у хворих на КРР був значно зниженим (у 5,6 раза) порівняно з показником хворих на виразку (рис. 3б). Відомо, що на ранніх стадіях росту пухлини нейтрофіли виявляють цитотоксичну активність щодо пухлинних клітин за рахунок утворення високого рівня СР і NO, за умови прогресування пухлинного процесу виявляють протуморальні властивості асоційованих з пухлиною нейтрофілів [12]. Слід також зазначити, що протягом перших днів високоліпідної дієти нейтрофіли мігрують до ЖТ [13]. У той же час асоційовані з пухлиною нейтрофіли інгібують протуморальні $\gamma\delta 17T$ -клітини [14]. Тому слід враховувати подвійний вплив цих клітин на мікрооточення пухлини.

Аналіз активності утворення супероксиду в тромбоцитах пацієнтів досліджуваних груп продемонстрував значне підвищення цього показника у хворих на КРР (рис. 4а), тоді як рівень NO значно знижувався за наявності ожиріння (рис. 4б). Крім того, у тромбоцитах пацієнтів з КРР можна виділити три групи з різною активністю утворення супероксиду, а саме $\leq 1,7$ нмоль/10³ клітин \cdot хв ($n = 10$), $\leq 1,9$ нмоль/10³ клітин \cdot хв ($n = 22$) і $\leq 2,1$ нмоль/10³ клітин \cdot хв ($n = 35$).

Таким чином, дисфункціональна ЖТ спричиняє підвищення активності утворення супероксиду в тромбоцитах пацієнтів з КРР. Основними джерелами утворення вільних радикалів при активації тромбоцитів людини є НАДФН-оксидази [15]. Відомо, що ожиріння підвищує активацію тромбоцитів

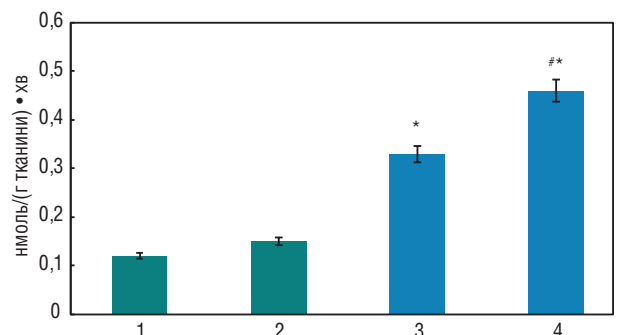


а

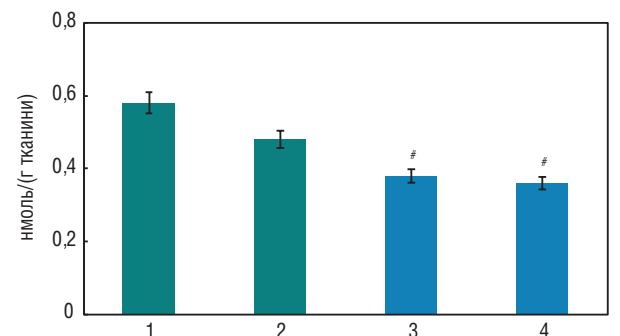


б

Рис. 1. Швидкість утворення СР (а) та рівень NO (б): 1 — у тканині кишечника хворих на виразку; 2 — у тканині КРР пацієнтів з ІМТ ≤ 25 кг/м²; 3 — у тканині КРР пацієнтів з ІМТ ≥ 25 кг/м²



а



б

Рис. 2. Швидкість утворення СР (а) та рівень NO (б) у ЖТ: 1 — хворі на виразку з ІМТ ≤ 25 кг/м²; 2 — хворі на виразку з ІМТ ≥ 25 кг/м²; 3 — пацієнти з КРР, ІМТ ≤ 25 кг/м²; 4 — пацієнти з КРР, ІМТ ≥ 25 кг/м². * $p < 0,01$ порівняно з відповідними показниками хворих на виразку; # $p < 0,05$ порівняно з показниками хворих на КРР з ІМТ ≤ 25 кг/м²

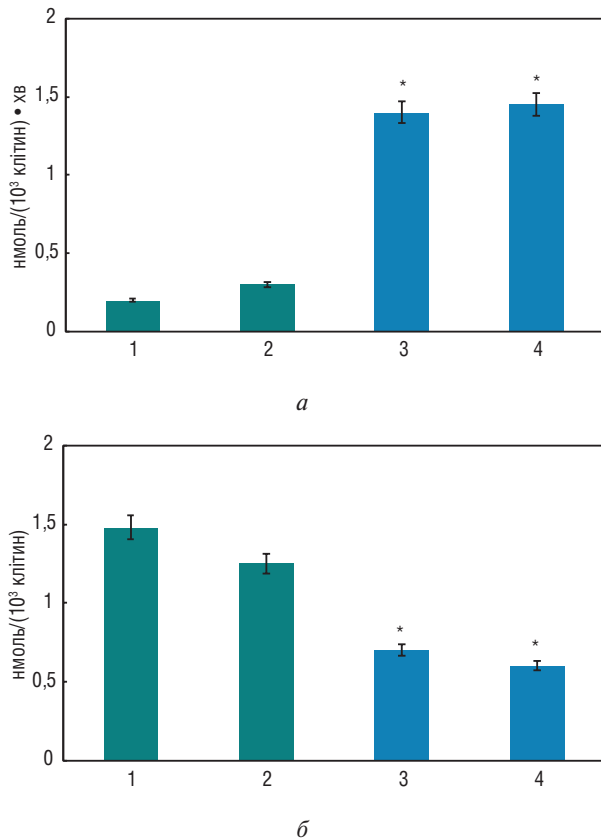


Рис. 3. Швидкість утворення CP (а) та рівень NO (б) у нейтрофілах периферичної крові: 1 — хворі на виразку з ІМТ ≤ 25 кг/м²; 2 — хворі на виразку з ІМТ ≥ 25 кг/м²; 3 — пацієнти з КРР, ІМТ ≤ 25 кг/м²; 4 — пацієнти з КРР, ІМТ ≥ 25 кг/м². * $p < 0,01$ порівняно з відповідними показниками хворих на виразку

і збільшує кількість нейтрофілів. Слід також зазначити, що активовані тромбоцити, які прилипають до ендотеліальних клітин, секретують про- та антиангіогенні фактори та продукують АФК, що призводить до утворення прокоагулянтного фенотипу тромбоцитів та підвищує ризик тромбозу. Компенсаторне збільшення кількості тромбоцитів у крові хворих на КРР через зниження активності NO-генерації пов'язане з підвищенням ризику метастазування та погіршенням прогнозу [16].

Враховуючи зміни окислювально-відновного стану пухлин, ЖТ, нейтрофілів і тромбоцитів, слід передбачити підвищення вмісту ВЖК у крові хворих на КРР. Фактично вміст ВЖК істотно зріс у плазмі крові пацієнтів з КРР порівняно з хворими на виразку. Крім того, вміст ВЖК у хворих на КРР з ожирінням був достовірно вищим, ніж у хворих з нормальною масою тіла (рис. 5). Підвищений вміст ВЖК, без сумніву, має впливати на їх метаболізм. Це може мати важливе значення для прогресування пухлини, враховуючи те, що ВЖК є не тільки структурними компонентами мембран, але й можуть слугувати вторинними посередниками та бути джерелом енергії. Важливо, що продукти перекисного окислення лі-

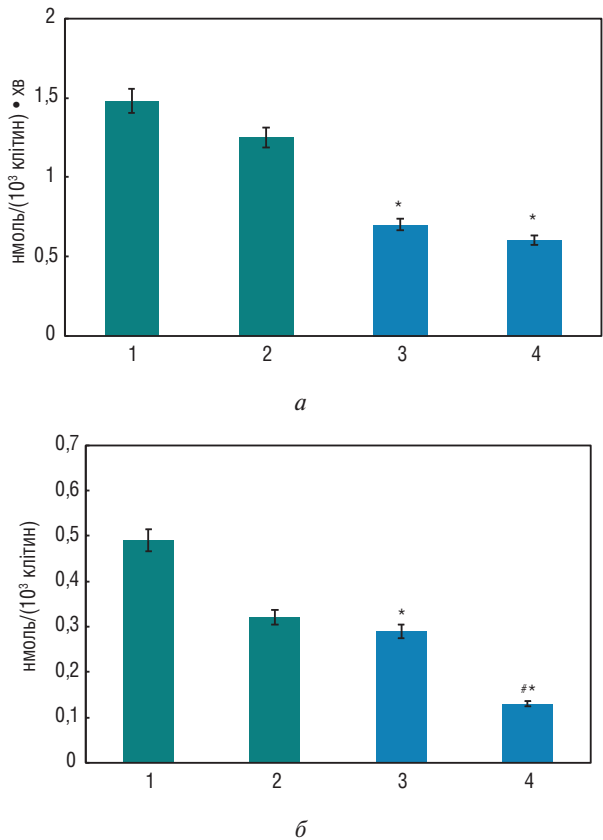


Рис. 4. Швидкість утворення CP (а) та рівень NO (б) в тромбоцитах: 1 — хворі на виразку з ІМТ ≤ 25 кг/м²; 2 — хворі на виразку з ІМТ ≥ 25 кг/м²; 3 — пацієнти з КРР, ІМТ ≤ 25 кг/м²; 4 — пацієнти з КРР, ІМТ ≥ 25 кг/м². * $p < 0,01$ порівняно з відповідними показниками хворих на виразку; ** $p < 0,01$ порівняно з показниками хворих на КРР з ІМТ ≤ 25 кг/м²

підв здатні модулювати функцію клітин, впливаючи на експресію та проліферацію генів [17].

Відомо, що желатинази тромбоцитів через протеолітичне моделювання рецепторів регулюють процес агрегації тромбоцитів з дисемінованими пухлинними клітинами, які циркулюють у судинному руслі, що дозволяє їм уникати імунного нагляду в агресивному середовищі кровотоку, покращує їх виживаність та, відповідно, підвищує ефективність екстравазації і таким чином сприяє дисемінації пухлинних клітин [18–20]. Існують дані щодо зв'язку між кількістю тромбоцитів, експресією або активністю ММП тромбоцитів та кількістю метастазів. Раніше нами було досліджено трирічну загальну виживаність хворих на рак шлунка категорії M0 за відсутності дисемінованих пухлинних клітин у кістковому мозку або за їх наявності в залежності від рівнів активності желатиназ тромбоцитів крові. Було виявлено, що і за відсутності, і за наявності дисемінованих пухлинних клітин у кістковому мозку низькі показники активності ММП-9 тромбоцитів асоційовані з більшою 3-річною загальною виживаністю [21]. Враховуючи зазначене, ми дослідили активність желатиназ тромбоцитів у крові

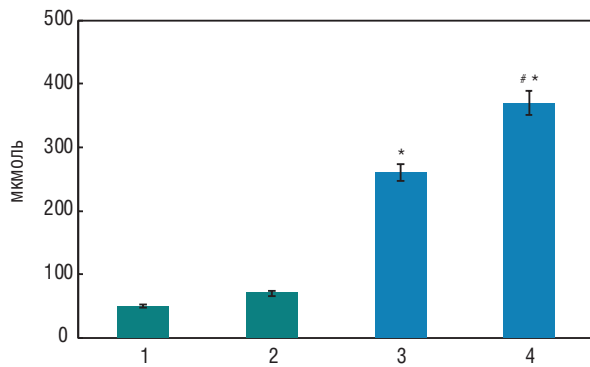


Рис. 5. ВЖК у плазмі крові: 1 — хворі на виразку з ІМТ ≤ 25 кг/м²; 2 — хворі на виразку з ІМТ ≥ 25 кг/м²; 3 — пацієнти з КРР, ІМТ ≤ 25 кг/м²; 4 — пацієнти з КРР, ІМТ ≥ 25 кг/м². * $p < 0,01$ порівняно з відповідними показниками хворих на виразку; ** $p < 0,01$ порівняно з показниками хворих на КРР з ІМТ ≤ 25 кг/м²

хворих на КРР та виразку кишечника (з нормальною та надмірною масою тіла).

На рис. 6 продемонстровано, що активність обох желатиназ тромбоцитів крові хворих на КРР як з нормальною, так і з надмірною масою тіла значно перевищує таку у пацієнтів з виразкою (у 2,3–5 разів, $p < 0,05$), які слугували групою контролю. При цьому у хворих на КРР з ожирінням активність ММП-2 та ММП-9 є в 1,7 та 2,4 раза достовірно вищою, ніж такі показники у пацієнтів з нормальною масою тіла.

Підсумовуючи отримані дані, можна зробити висновки, що у хворих на КРР з ожирінням активність утворення супероксиду підвищується в пухлинних клітинах, ЖТ, нейтрофілах і тромбоцитах. Натомість рівень NO підвищується лише в пухлинній тканині, тоді як активність NOS знижується в ЖТ, нейтрофілах і тромбоцитах. Таким чином, збільшення маси ЖТ у хворих на рак пов'язане з посиленням генерування СР мітохондріями, надлишок енергетичних субстратів при ожирінні посилює мітохондріальну дисфункцію та окислювальну передачу сигналів. Посилення утворення окисно-відновних молекул також призводить до збільшення вмісту в крові ВЖК. Останні стають основним джерелом енергії для пухлинних клітин. Більше того, ВЖК є важливими вторинними месенджерами. Високий протеолітичний потенціал тромбоцитів, зумовлений желатиназами, може бути асоційований як з наявністю пухлини, так і з надмірною масою тіла пацієнта. Зважаючи на функції желатиназ тромбоцитів, пов'язані із супроводом циркулюючих дисемінованих пухлинних клітин, можна передбачити їх роль у посиленні метастазування та несприятливому прогнозі перебігу КРР.

Отже, ожиріння слід розглядати як додатковий фактор ризику несприятливого перебігу пухлинного процесу, що є потужним предиктором низки подій, таких як окислювальний стрес, запалення, резистентність до інсуліну та ендотеліальна дисфунк-

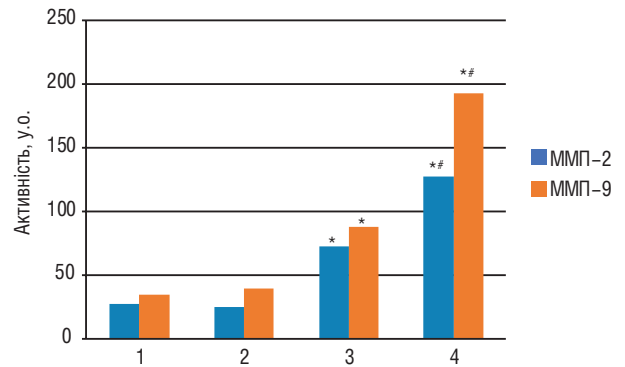


Рис. 6. Активність ММП-2 та ММП-9 тромбоцитів крові: 1 — хворі на виразку з ІМТ ≤ 25 кг/м²; 2 — хворі на виразку з ІМТ ≥ 25 кг/м²; 3 — пацієнти з КРР, ІМТ ≤ 25 кг/м²; 4 — пацієнти з КРР, ІМТ ≥ 25 кг/м². * $p < 0,01$ порівняно з відповідними показниками хворих на виразку; ** $p < 0,01$ порівняно з показниками хворих на КРР з ІМТ ≤ 25 кг/м²

ція. Можна припустити, що молекулярні процеси та сигнальні шляхи, які є регуляторами енергетичного метаболізму і притаманні ожирінню, можна розглядати як найбільш ймовірні терапевтичні мішені для зниження ризиків прогресування КРР.

ВИСНОВКИ

1. У пацієнтів з КРР за наявності ожиріння активність утворення супероксиду підвищується в пухлинних клітинах, ЖТ, нейтрофілах і тромбоцитах. Рівень NO підвищується лише в пухлинній тканині та знижується в ЖТ, нейтрофілах і тромбоцитах.

2. Збільшення утворення окисно-відновних молекул призводить до зростання вмісту в крові ВЖК, які стають основним джерелом енергії для пухлинних клітин та важливими вторинними месенджерами.

3. Високий протеолітичний потенціал тромбоцитів, зумовлений желатиназами, асоційований як з наявністю злоякісного росту, так і з надмірною масою тіла пацієнта. Зважаючи на участь тромбоцитів у дисемінації пухлинних клітин, можна передбачити їх роль у метастатичному потенціалі та несприятливому перебігу КРР.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Sreevalsan S, Safe S. Reactive oxygen species and colorectal cancer. *Curr Colorectal Cancer Rep* 2013; **9** (4): 350–7. doi:10.1007/s11888-013-0190-5
- Aggarwal V, Tuli HS, Varol A, et al. Role of reactive oxygen species in cancer progression: Molecular mechanisms and recent advancements. *Biomolecules* 2019; **9** (11): 735. doi: 10.3390/biom9110735
- Helms C, Kim-Shapiro DB. Hemoglobin-mediated nitric oxide signaling. *Free Radic Biol Med* 2013; **61**: 464–72. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.04.028
- «BMI Classification». Global Database on Body Mass Index. World Health Organization 2006; **27**: 2012.
- 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** (3): 701–8.
- 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; **38** (4): 323–5.

7. **Burlaka AP, Burlaka AA, Virko SV, Ganusevich II.** Molecular mechanisms of oxidation damage and liver cell dysfunction in patients with metastatic colorectal cancer. *Exp Oncol* 2019; **41** (4): 328–34. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-41-no-4.13796

8. **McMurray F, Patten DA, Harper M-E.** Reactive oxygen species and oxidative stress in obesity — recent findings and empirical approaches. *Obesity* (Silver Spring) 2016; **24** (11): 2301–10. doi: 10.1002/oby.21654

9. **Ataie Z, Dastjerdi M, Farrokhfah K, Ghiravani Z.** The effect of cinnamaldehyde on iNOS activity and NO-induced islet insulin secretion in high-fat-diet rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2021; **2021**: 9970678. doi: 10.1155/2021/9970678

10. **Suresh V, Reddy A.** Dysregulation of nitric oxide synthases during early and late pathophysiological conditions of diabetes mellitus leads to amassing of microvascular impedement. *J Diabetes Metab Disord* 2021; **20** (1): 989–1002. doi: 10.1007/s40200-021-00799-y

11. **Avci E, Karabulut A, Alp AG, et al.** Crucial markers showing the risk of coronary artery disease in obesity: ADMA and neopterin. *J Med Biochem* 2020 **39** (4): 452–9. doi: 10.5937/jomb0-24683

12. **Hiramatsu S, Tanaka H, Nishimura J, et al.** Gastric cancer cells alter the immunosuppressive function of neutrophils. *Oncol Rep* 2020; **43** (1): 251–9. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7410>

13. **Tsuhako R, Yoshida H, Sugita C, Kurokawa M.** Naringenin suppresses neutrophil infiltration into adipose tissue in high-fat diet-induced obese mice. *J Nat Med* 2020; **74** (1): 229–37. doi: 10.1007/s11418-019-01332-5

14. **Mensurado S, Rei M, Lança T, et al.** Tumor-associated neutrophils suppress pro-tumoral IL-17+ $\gamma\delta$ T cells through induction of oxidative stress. *PLoS Biol* 2018; **16** (5): e2004990. doi: 10.1371/journal.pbio.2004990

15. **Wachowicz B, Olas B, Zbikowska H, Buczyński A.** Generation of reactive oxygen species in blood platelets. *Platelets* 2002; **13** (3): 175–82. doi: 10.1080/09533710022149395

16. **Lin MS, Huang JX, Zhu J, Shen HZ.** Elevation of platelet count in patients with colorectal cancer predicts tendency to metastases and poor prognosis. *Hepatogastroenterology* 2012; **59** (118): 1687–90. doi: 10.5754/hge12277

17. **Federico A, Morgillo F, Tuccillo C, et al.** Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *Int J Cancer* 2007; **121** (11): 2381–6. doi: 10.1002/ijc.23192

18. **Gonzalez-Avila G, Sommer B, Mendoza-Posada DA, et al.** Matrix metalloproteinases participation in the metastatic process and their diagnostic and therapeutic applications in cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2019; **137**: 57–83. doi: 10.1016/j.critrevonc.2019.02.010

19. **Mezouar S, Frère C, Darbousset R, et al.** Role of platelets in cancer and cancer-associated thrombosis: experimental and clinical evidences. *Thromb Res* 2016; **139**: 65–76. doi: 10.1016/j.thromres.2016.01.006

20. **Palacios-Acedo AL, Mège D, Crescence L, et al.** Platelets, thrombo-inflammation, and cancer: collaborating with the enemy. *Front Immunol* 2019; **10**: 1805. doi: 10.3389/fimmu.2019.01805

21. **Ganusevich II, Mamontova LA, Kovelskaya AV, et al.** Platelet gelatinase in metastasis and prognosis of gastric cancer. *Oncology* 2016; **18**(2): 130–136. (in Ukrainian).

REDOX-DEPENDENT FEATURES OF TUMORS, ADIPOSE TISSUE, NEUTROPHILES AND PLATELETS IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER

A.P. Burlaka¹, A.A. Burlaka², I.I. Ganusevich¹

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

²*National Cancer Institute,*

Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. Aim: to study the features of superoxide radicals (SOR) generation, the content of reactive nitric oxide (NO) and free fatty acids, the activity of matrix metalloproteinases-2 and -9 (or gelatinases) in tumor and adipose tissue cells, as well as in blood neutrophils and platelets in patients with colorectal cancer in the overweight. **Objects and methods:** Electron paramagnetic resonance spectrometry, zymography in polyacrylamide gel, biochemical, spectrophotometric and statistical methods were used. **Results:** it was revealed that the accumulation of dysfunctional adipose tissue in a patient's body promotes an increase in the rate of generation of superoxide radicals in the tumor, superoxide-generating activity of neutrophils and platelets, and the activity of matrix metalloproteinases. **Conclusions:** imbalance in the redox state of neutrophils and platelets elicited by dysregulated SOR formation as well as hyperlipidemia and activation of metalloproteinases in the overweight can modify tumor microenvironment that in turn promotes the formation of a highly invasive and aggressive cancer cells phenotype as well as facilitates metastasizing due to increased efficacy of tumor cells dissemination.

Key words: colorectal cancer, adipose tissue, neutrophils, platelets, superoxide radicals, matrix metalloproteinases.

Адреса для листування:

Ганусевич І.І.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

Інститут експериментальної патології,

онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького

НАН України

E-mail: iganus2000@yahoo.com

Одержано: 19.04.2022