DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-182-10-56-64 УДК 616-006.66, 612.397.2

Различия в жирнокислотных профилях мембран эритроцитов, связанные с локализацией опухоли при колоректальном раке (пилотное исследование)

Кручинина М.В.^{1,2}, Светлова И.О.², Курилович С.А.^{1,2}, Шашков М.В.³, Соколова А.С.⁴, Кручинин В.Н.⁵

- ¹ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины филиал ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1
- ² ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Новосибирск, Российская Федерация, 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52
- ³ ФГБУН Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 5
- 4 ФГБУН Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 9
- 5 ФГБУН Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 13

Differences in fatty acid profiles of erythrocyte membranes related to tumor localization in colorectal cancer (pilot study)

M. V. Kruchinina^{1, 2}, I.O. Svetlova², S. A. Kurilovich^{1, 2}, M. V. Shashkov³, A. S. Sokolova⁴, V. N. Kruchinin⁵

- Research Institute of Internal and Preventive Medicine Branch of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, 630089, Novosibirsk, st. Boris Bogatkov, 175/1
- ² Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "Novosibirsk State Medical University" Ministry of Health of the Russian Federation, 630091, Novosibirsk, Krasnyj prospect, 52
- ³ Boreskov Institute of Catalysis SB RAS, 630090, Novosibirsk, Lavrentiev Ave. 5
- ⁴ Novosibirsk Institute of Organic Chemistry SB RAS, 630090, Novosibirsk, Lavrentiev Ave. 9
- ⁵ Rzhanov Institute of Semiconductor Physics SB RAS, 630090, Novosibirsk, Lavrentiev Ave. 13

Для цитирования: Кручинина М. В., Светлова И. О., Курилович С. А., Шашков М. В., Соколова А. С., Кручинин В. Н. Различия в жирнокислотных профилях мембран эритроцитов, связанные с локализацией опухоли при колоректальном раке (пилотное исследование). Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020;182(10): 56–64. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-182-10-56-64

For citation: Kruchinina M. V., Svetlova I. O., Kurilovich S. A., Shashkov M. V., Sokolova A. S., Kruchinin V. N. Differences in fatty acid profiles of erythrocyte membranes related to tumor localization in colorectal cancer (pilot study). Experimental and Clinical Gastroenterology. 2020;182(10): 56–64. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-182-10-56-64

⊠ Corresponding author: Кручинина Маргарита Витальевна Margarita V. Krucinina kruchmargo@yandex.ru **Кручинина Маргарита Витальевна**, Лаборатория гастроэнтерологии, ведущий научный сотрудник, д.м.н.; доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней

Светлова Ирина Олеговна, доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии (факультета повышения квалификации и переподготовки врачей). к.м.н.

Курилович Светлана Арсентьевна, Лаборатория гастроэнтерологии, заведующая лабораторией, д.м.н.; профессор кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии (факультета повышения квалификации и переподготовки врачей)

Шашков Михаил Вадимович, Аналитическая лаборатория, научный сотрудник, кандидат химических наук

Соколова Анастасия Сергеевна, Лаборатория физиологически активных веществ, научный сотрудник, кандидат химических наук

Кручинин Владимир Николаевич, научный сотрудник, кандидат химических наук

Margarita V. Krucinina, Laboratory of Gastroenterology, Leading researcher, MD; Department of Propaedeutics of Internal Medicine, Associate Professor

Irina O. Svetlova, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology (Faculty of Continuing Education and Retraining of Doctors). PhD

Svetlana A. Kurilovich, Head of Laboratory of Gastroenterology, MD; Department of Therapy, Hematology and Transfusiology (Faculty of Continuing Education and Retraining of Doctors), Professor

Mikhail V. Shashkov, Researcher, PhD

Anastasia S. Sokolova, Researcher, PhD

Vladimir N. Kruchinin, Researcher, PhD

Резюме

Цель работы. Изучить особенности состава жирных кислот (ЖК) мембран эритроцитов у пациентов с различной локализацией опухоли при колоректальном раке (КРР).

Материалы и методы. С помощью хромато-масс-спектрометрической системы (ГХ/МС) на основе трех квадруполей Agilent 7000B (США) исследован состав ЖК мембран эритроцитов (Эр) 129 пациентов с КРР: (средний возраст 63,2±9,4 лет, из них — 68 мужчин и 61 женщина; 25 — с проксимальной, 98 — с дистальной локализацией опухоли) и 35 человек группы сравнения.

Результаты. Установлена большая степень снижения уровней насыщенных, мононенасыщенных ЖК (НЖК, МНЖК), и, напротив, повышения уровня полиненасыщенных ЖК (ПНЖК) у пациентов с дистальной локализацией опухоли по сравнению со здоровыми, чем то же соотношение в паре «проксимальная локализация КРР опухоли — здоровые». Отмечена большая степень повышения уровня омега-3 ПНЖК, чем омега-6, что сказалось на соотношении n-6 / n-3, которое было значимо снижено у больных раком, в большей степени при дистальной локализации опухоли.

Наиболее значимыми для различения опухолей, локализующихся в различных частях кишки, оказались: насыщенные жирные кислоты — миристиновая C14:0 (p<0,001) и пентадекановая C15:0 (p=0,012), омега-3 α-линоленовая (C18:3; n-3) (p=0,02), уровни которых были достоверно выше и, напротив, большая часть омега-6 ПНЖК (C18:2 n-6, C20:3 n-6, C20:4 n-6) и одна омега-3 ПНЖК — C22:6 n-3 (p<0,05), уровни которых оказались достоверно ниже при проксимальной локализации опухоли, чем при дистальной.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о важности учета локализации опухоли у пациентов с КРР при проведении исследований метаболических профилей.

Ключевые слова: колоректальный рак, локализация опухоли, хромато-масс-спектрометрия, жирные кислоты, эритроциты

Summary

Aim of work is to study the compositional features of fatty acids (FA) of erythrocyte membranes in patients with different localization of the tumor in colorectal cancer (CRC).

Materials and methods. Using a chromatography-mass spectrometric system (GC/MS) Agilent 7000B based on three quadrupoles (USA), the composition of erythrocyte (Er) membranes of 129 patients with CRC was studied: (average age 63.2±9.4 years, of which 68 men and 61 women; 25 with proximal, 98 with distal tumor localization) and 35 people in the comparison group.

Results. A greater degree of decrease in the levels of saturated, monounsaturated FAs (MUFAs), and, conversely, an increase in the levels of polyunsaturated FAs (PUFAs) in patients with distal tumor localization compared to healthy ones, was established than the same ratio in the pair "proximal localization of tumor RCC — healthy". A greater degree of increase in the level of omega-3 PUFAs was noted than omega-6, which affected the ratio n-6 / n-3, which was significantly reduced in cancer patients, to a greater extent with distal tumor localization.

The most significant for distinguishing tumors located in different parts of the intestine were: saturated fatty acids — myristic C14:0 (p<0,001) and pentadecanoic C15:0 (p=0,012), omega-3 a-linolenic (C18:3; n-3) (p=0,02), whose levels were significantly higher and, conversely, most of the omega-6 PUFAs (C18:2 n-6, C20:3 n-6, C20:4 n-6) and one omega-3 PUFAs — C22:6 n-3 (p<0,05), whose levels were significantly lower with proximal localization of the tumor than with distal.

Conclusion. The results obtained indicate the importance of taking into account the localization of the tumor in patients with CRC when conducting studies of metabolic profiles.

Keywords: colorectal cancer, tumor localization, chromatography-mass spectrometry, fatty acids, red blood cells

Введение

Колоректальный рак – весьма разнородное заболевание, имеющее особенности в связи с различной локализацией опухоли. Bufill J. A. (1990) была предложена классификация КРР, предполагающая деление на проксимальный и дистальный рак по уровню селезеночного изгиба. Было высказано предположение, что риск развития рака толстой кишки различен для опухолей, расположенных в прокси-

мальном и дистальном отделах, в связи с различным влиянием экологических и генетических факторов [1]. Li F., Lai M. [2] представили доказательства того, что колоректальный рак следует разделить на рак проксимального, дистального отдела толстой кишки и рак прямой кишки, поскольку имеются различия в физиологии и анатомии, влиянии канцерогенов окружающей среды, генетических механизмах и про-

гнозе между этими тремя видами рака. В отношении влияния жирных кислот и их уровней в случаях КРР разных локализаций данные исследователей противоречивы. Существует тесная связь между потреблением насыщенных жиров и риском развития рака толстой кишки, вместе с тем Glade М. Ј. показал ее только для рака прямой кишки [3]. Согласно Sasazuki et al. [4] морские п-3 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) и специфические ПНЖК обратно коррелировали с риском развития рака толстой кишки в проксимальном отделе, но такой ассоциации для n-6 ПНЖК не наблюдалось. Hodge et al. [5] наблюдали положительную связь с диетической

пальмитиновой кислотой, мононенасыщенными ЖК и n-6 ПНЖК для ректального, но не для опухолей других отделов толстой кишки. Представлено немало данных об особенностях профилей жирных кислот мембран эритроцитов, плазмы, сыворотки крови, ассоциированных со стадиями КРР [6–13]. Вместе с тем, связь между уровнями жирных кислот в мембранах эритроцитов и локализацией опухоли недостаточно известна.

Цель настоящего исследования – изучить особенности жирнокислотного состава мембран эритроцитов у пациентов с различной локализацией опухоли при колоректальном раке.

Материалы и методы

Обследованы 129 пациентов с КРР: (средний возраст 63,2±9,4 лет, из них – 68 мужчин и 61 женщина; 25 – с проксимальной, 98 – с дистальной локализацией опухоли) и 35 человек группы сравнения.

Больные, поступившие в ГБУЗ НСО «Новосибирский областной онкологический диспансер» с гистологически подтвержденным колоректальным раком (аденокарцинома), были включены в исследование при отсутствии следующих факторов: диетических ограничений из-за непроходимости кишечника, серьезного сопутствующего заболевания (тяжелое течение сахарного диабета, выраженная печеночная или почечная недостаточность или гиперлипидемия, требующие лечения препаратами), анамнеза других злокачественных новообразований. Пациенты с КРР были диагностированы в соответствии с комбинированными клиническими критериями, включая данные визуализации, маркеры опухоли в сыворотке крови и кале с дополнительным подтверждением диагноза гистопатологическим анализом (у большинства выявлена умеренно-дифференцированная аденокарцинома, в 6 случаях – высокой, в 3 - низкой степени дифференцирования). Всем пациентам опухоль толстой кишки была диагностирована впервые.

Определение стадии опухоли толстой кишки уточнено после операции с исследованием патологического образца и с учетом наличия метастазирования в регионарные лимфатические узлы или обнаружения отдаленных метастазов в соответствии с классификацией по TNM. При стадировании КРР по степени инвазии опухоли оказалось, что у 65 пациентов выявлены I–II стадии заболевания (I – в 12, II – в 53 случаях). Оставшиеся 64 больных оказались с продвинутыми стадиями колоректального рака – III–IV (III – у 42 человек, IV – у 22). По наличию метастазов в регионарных лимфатических узлах установлено, что у 65 (50%) пациентов поражения регионарных лимфоузлов не выявлено (N0), у 26 человек (20,2%) выявлены метастазы в 1–3

(включительно) регионарных лимфатических узлах (N1), метастазы в более чем 3-х регионарных лимфатических узлах (N2) определены у оставшихся пациентов (29,8%).

Наличие отдаленных метастазов (M) установлено у 22 пациентов: в большинстве случаев (14 пациентов) выявлены отдаленные метастазы в печень (\mathbf{M}_{la}), у 6-х больных – множественные метастазы в печень и легкие, в двух случаях – метастазы в печень и брюшину (\mathbf{M}_{lb}).

Локализация опухолей была различна. У 25 пациентов опухоль выявлена в проксимальной части толстой кишки, включая слепую кишку (13), восходящий (5) и поперечно-ободочный (7) отделы толстой кишки; в 98 случаях очаг локализовался в дистальной ободочной кишке: в нисходящей (4) и сигмовидной (36); у значительного числа пациентов (58) опухоль обнаружена в прямой кишке. 6 пациентов имели первично-множественную локализацию опухолей в толстой кишке.

Распределение пациентов по гендерному признаку в зависимости от локализации опухоли в толстой кишке представлена в таблице 1. Из данных таблицы следует, что дистальная локализация опухоли достоверно чаще встречалась у мужчин, а у женщин в более половины случаев выявлен рак прямой кишки, значимо превосходя мужчин (р<0,05). Проксимальная локализация и первично множественная оказались сопоставимы у мужчин и женщин.

В качестве группы сравнения были отобраны лица, которым при обследовании в ГБУЗ НСО «НООД» и НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Новосибирск-Главный ОАО «РЖД» были исключены злокачественные новообразования, без манифестирующей патологии внутренних органов. Пациенты исключались из исследования, если они получали какие-либо добавки омега-3 полиненасыщенных жирных кислот или статины, имели гиперлипидемию, которая могла потребовать лекарственной коррекции, имели какие-либо

Таблица 1.
Распределение мужчин и женщин, больных КРР, в зависимости от локализации опухоли в толстой кишке

Примечание:

| Пол | Локализация опухоли в толстой кишке | | | | | | |
|---------------|-------------------------------------|-------------|--------------|---------------|--|--|--|
| | Проксимальная | Дистальная | Прямая кишка | Множественная | | | |
| Мужчины (п,%) | 14 (20,6%) | 27 (39,7%) | 25 (36,7%) | 2 (3%) | | | |
| Женщины (n,%) | 11 (18%) | 13 (21,3%)* | 33 (54,1%)* | 4 (6,6%) | | | |

 ⁻ достоверность отличия от мужчин,

^{*-} p<0,05.

значительные отклонения по данным исследования общего анализа крови или биохимии или имели холестериновые камни в желчном пузыре [14]. Обследованные группы сравнения вели здоровый образ жизни, не курили, употребляли алкоголь в дозах, не превышающих 20 гр в сутки в пересчете на чистый этанол, не чаще 1–2 раз в течение месяца.

Исследование состава жирных кислот Эр проведено с помощью ГХ/МС системы на основе трех квадруполей Agilent 7000В (США). Концентрации жирных кислот выражали в относительных процентах. Предел обнаружения жирной кислоты \sim 1 мкг на образец. Кроме содержания отдельных ЖК, определяли суммарное содержание насыщенных, ненасыщенных, полиненасыщенных, омега-3 ПНЖК, омега-6 ПНЖК, их соотношения, а также индекс ненасыщенности, который вычислялся как ИН = C16:1 + C18:1cis + C18:2cis(x2) + C18:3(x3) + C20:2(x2) + C20:4(x4) + C20:5(x5) + C22:6(x6).

Подробное описание пробоподготовки для определения состава жирных кислот представлено в работе [15].

Для статистического анализа использовано программное обеспечение SPSS, ver. 22. Для сравнения между двумя независимыми группами применялся тест Mann–Whitney U и/или тест хи-квадрат. Для сравнения параметров между тремя независимыми группами использован ANOVA с последующим тестом Tukey HSD. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы (р) принимался равным 0,05.

Исследование выполнено с одобрения Комитета Биомедицинской Этики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины» (29.11.2016, протокол № 123). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Результаты

Пациенты с КРР были разделены на 2 группы в зависимости от локализации опухоли в толстой кишке: с проксимальной локализацией опухоли (n=25) и дистальной (n=98). В каждой из групп, а также у лиц группы сравнения, были проанализированы

особенности ЖК состава мембран эритроцитов (таблица 2).

По уровням большей части насыщенных жирных кислот в мембранах эритроцитов установлена большая степень снижения их значений в случае

Группа боль- Группа боль-Группа ных с прокных с КРР Критерий ANO-VA сравнения, Содержание жирных кислот симальной с дистальной Манна-(между Значимость группами) n=35 Уитни (%)локализаци- локализацией опухоли (1) ей опухоли. р F n=25 (2) n=98 (3) 0.81 ± 0.68 0.78 ± 0.84 0.66 ± 0.58 С12:0 Додекановая 0,57(0,26; 0,48(0,15; 0,54(0,17; p1-3< 0,05 1,243 0,295 (Лауриновая) 1,36) 1,19) 1,04) p1-2=0,0481,33±0,83 1,04±0,47 0.85 ± 0.43 С14:0 Тетралека-новая p1-3< 1,14(0,72; 0,87(0,52; 0,70(0,42; 5,258 0,001 (Миристи-новая) 0,0001 1,7) 1,4) 1,11) p2-3 < 0.050,51±0,39 $0,41\pm0,23$ $0,31\pm0,20$ p1-2=0,04p1-3< 0,001 С15:0 Пенталека-новая 0,41(0,31; 0,36(0,20; 0,27(0,15; 3,328 0,012 p2-3< 0,05 0,56)0,53)0,40)p1-2=0,07631,72+3,95 28,89±5,46 27.01±5.97 С16:0 Гексаде-кановая p1-3< 32,19(29,5; 29,1(25,4; 27,64(23,45; 4,812 0,001 (Пальмити-новая) 0,0001 33,96) 33,44) 31,0) 0.86 ± 0.52 0,70±0,66 0,72±0,55 С16:1;7 Цис-7-гексадекановая p1-2=0,0180,64(0,35; 1,462 0,216 0.82(0.47; 0,42(0,27; (7-Пальмитоолеи-новая) p1-3 = 0,0151,17) 0,92) 0,98) $1,87\pm0,87$ 1,68±1,08 $1,49\pm0,70$ С16:1;9 Цис-9-гексадекановая p1-3=1,74(1,11; 1,57(0,82; 1,51(1,03; 3,265 0,013 (Паль-митоолеиновая) 0,009 1,94) 2,48)2,16) $0,38\pm0,12$ $0,28\pm0,12$ $0,30\pm0,22$ С17:0 Гептадека-новая p1-2=0,0020,38(0,29; 0,25(0,21; 0,099(0,033; 4,525 0,002 p1-3=0,003(Маргарино-вая) 0,22)0.47) 0.39) $0,12\pm0,11$ $0,16\pm0,12$ $0,17\pm0,21$ С16:2;9,12 (n-6) Гексадекади-0,11(0,02; 0,13(0,086; 0,12(0,044; p1-3=0,090,419 0,795 еновая 0,16)0,22)0,23)20,45±9,68 17,01±8,0 17,45±6,37 С18:0 Октадекановая 15,12(13,45; 13,89(12,78; 14,79(13,46; p > 0,11,049 0,384 (Стеариновая) 29,29) 17,09) 19,26)

Таблица 2. Уровни жирных кислот в мембранах эритроцитов у пациентов с КРР разных локализаций и лиц группы сравнения (M±SD; Me (25%;75%).

таблица 2 (продолжение).

| Содержание жирных кислот (%) | Группа сравнения, n=35 (1) | ных с прок- симальной | Группа боль- ных с КРР с дистальной локализаци- ей опухоли, n=98 (3) | Критерий Манна- Уитни р | ANO-VA (между группами) F | Значимость |
|---|-------------------------------------|--------------------------------------|---|---|------------------------------------|------------------|
| С18:1; с9 Цис-9-октадекановая (Олеиновая) | 12,76±3,86 14,33(9,06; 15,56) | 13,61±3,49 15,14(11,35; 16,42) | 13,60±3,06 14,39(11,45; 15,75) | p >0,1 | 0,362 | 0,836 |
| С18:1; t9 Транс-9-октадекано- вая (Элаидиновая) | 1,11±0,58 1,08(0,65; 1,58) | 0,91±0,6 0,87(0,36; 1,20) | 0,98±0,54 0,92(0,57; 1,36) | p >0,1 | 0,713 | 0,584 |
| С18:2;9,12 (n-6) Октадекадиеновая (Линолевая) | 11,6±3,77 11,45(8,49; 14,83) | 11,08±2,53 10,79(10,38; 12,67) | 11,93±2,78 11,79(10,37; 13,40) | p1-2= 0,058 p1-3= 0,083 p2-3 < 0,05 | 0,553 | 0,697 |
| С20:0 (Эйкозановая, Арахиновая) | 0,14±0,14 0,08(0,05; 0,17) | 0,17±0,14 0,16(0,045; 0,27) | 0,13±0,10 0,077(0,037; 0,20) | p >0,1 | 0,642 | 0,633 |
| С18:3;6,9,12 (n-3) Октадекатри- еновая (а-Линоленовая) | 0,14±0,15 0,10(0,04; 0,17) | 0,29±0,15 0,24(0,082; 0,42) | 0,22±0,12 0,15(0,079; 0,30) | p1-2= 0,015 p1-3= 0,047 p2-3= 0,02 | 3,023 | 0,02 |
| С20:2;11,14 (n-6) (Докодиеновая) | 0,18±0,09 0,19(0,10; 0,24) | 0,31±0,21 0,26(0,17; 0,44) | 0,32±0,19 0,27(0,20; 0,41) | p1-2= 0,012 p1-3< 10 ⁻⁵ | 8,002 | 10-5 |
| C20:3;8, 11,14 (n-6) (Дигомо-ү-линоле-новая) | 0,86±0,32 0,82(0,6; 1,05) | 1,08±0,39 1,09(0,75; 1,25) | 1,26±0,23 1,20(0,88; 1,61) | p1-2= 0,025 p1-3< 0,0001 p2-3 = 0,04 | 5,343 | 10-5 |
| С20:4;5,8,11,14 (n-6) (Эйкозатетра-еновая) арахи- доновая | 9,35±3,14 9,25(7,6; 11,19) | 12,62±2,31 12,73(8,29; 15,91) | 13,08±1,98 13,45(10,29; 15,51) | p1-2= 0,002 p1-3< 0,0001 p2-3 < 0,05 | 6,438 | 10-5 |
| C20:5;5,8,11,14,17 (n-3) (Эйкозапентаеновая) | 0,46±0,24 0,45(0,3; 0,54) | 0,70±0,43 0,59(0,37; 0,96) | 0,67±0,38 0,57(0,39; 0,86) | p1-2= 0,021 p1-3= 0,002 | 2,584 | 0,039 |
| C22:4;7,10,13,16 (n-6) (Докозатетраеновая) | 1,51±0,72 1,44(0,94; 2,04) | 2,45±1,43 2,06(1,44; 3,51) | 2,53±1,26 2,33(1,76; 3,11) | p1-2= 0,009 p1-3 < 0,0001 | 4,937 | 0,001 |
| С22:5;7,10,13,16,19 (n-3) (Докозапентаеновая) | 1,05±0,42 0,94(0,82; 1,26) | 1,69±1,07 1,49(0,74; 2,51) | 1,70±0,79 1,62(1,14; 2,09) | p1-2= 0,034 p1-3 < 0,0001 | 4,877 | 0,001 |
| C22:6;4,7,10,13,16,19 (n-3) (Докозагексаеновая) | 2,14±0,93 2,09(1,56; 2,78) | 3,42±1,24 3,06(1,66; 4,82) | 3,92±1,20 3,49(2,54; 4,99) | p1-2= 0,006 p1-3< 0,0001 p2-3< 0,05 | 7,183 | 10 ⁻⁵ |

локализации опухоли в дистальной части кишки по сравнению со здоровыми, чем подобная ситуация в проксимальной части кишки. Наибольшая степень снижения отмечена по уровню миристиновой (С14:0), пентадекановой (С15:0), пальмитиновой (С16:0) и маргариновой (С17:0) жирных кислот (р<0,0001–0,05).

Содержание большей части мононенасыщенных ЖК также оказалось ниже, чем у здоровых, как при локализации опухоли в правой, так и левой части кишки, но лишь для двух ЖК – C16:1;7 и C16:1; 9 – это снижение оказалось достоверным (p=0,009–0,018). Уровень олеиновой ЖК (C18:1; с9) имел иную тенденцию – к повышению как для правой, так и левой половине кишки, по сравнению со здоровыми.

Наиболее высокодостоверными оказались различия в уровнях полиненасыщенных жирных кислот, которые были выше у пациентов как с проксимальной, так и дистальной локализацией опухоли в отличие от группы сравнения (p< 0,0001–0,001).

По содержанию омега-6 ПНЖК наиболее частой тенденцией оказалось большее повышение при локализации опухолей в дистальной части кишки, чем в проксимальной, по сравнению со здоровыми. Наибольшая степень нарастания установлена для уровней C20:2 n-6, C20:3 n-6, C20:4 n-6 (p<0,0001–0,025).

Уровни омега-3 ПНЖК были также достоверно выше, чем у здоровых, при различных локализациях опухоли (p<0,0001–0,047), но соотношения были иными: уровень α -линоленовой (C18:3; n-3) оказался более высоким при проксимальной локализации опухоли, чем дистальной (p=0,02). Уровни C20:5 n-3 и C22:5 n-3 были сопоставимы при разных локализациях опухоли, а содержание докозагексаеновой C22:6 n-3 оказалось достоверно выше при левосторонней локализации опухоли, чем таковое в правой половине кишки (p<0,05).

Анализ суммарного содержания различных классов жирных кислот и их соотношений (таблица 3) выявил общий тренд для обеих локализаций

Группа боль-Группа Группа ных с прокбольных с КРР ANO-VA Критерий Индексы сравнения, симальной с дистальной (между Манна-Уитни Значимость n=35 жирных кислот группами) локализацилокализаци-F (1) ей опухоли ей опухоли, n=25 (2) n=98 (3) 53,9±15,3 48,61±11,26 47,43±10,23 p1-2=0,04851,18(46,3; 46,83(39,81; 45,21(40,70; 0,170 Насыщенные 1,628 p1-3< 0,001 66,43) 52,19) 52,02) 42,9±14,12 51,36±11,26 52,55±10,27 p1-2=0,0170.005 Ненасышенные 48,78(33,5; 53,16(47,8; 54,79(47,9; 3,064 p1-3< 0,0001 53,02) 60,18) 59,29) 16,54±6,01 17,05±4,46 16,80±3,93 p >0,1 Моно-ненасыщенные 18,39(11,6; 18,34(13,6; 17,07(13,9; 0,275 0,894 20,61) 20,73) 19,79) 34,33±9,66 26.44+9.14 35.75+8.5 p1-2=0,002Поли-ненасыщенные 26,91(21,9; 34,69(27,3; 35,45(29,4; 6,698 10^{-5} p1-3< 0,0001 40,93) 41,77) 34,48) 3,75±1,74 6,16±3,26 $6,45\pm2,8$ p1-2=0,002 10^{-5} 6,876 Омега-3 5,38(3,42; 5,59(4,48; 3,54(2,76; p1-3< 0,0001 4,33) 8,49) 8,33) 28,01±7,15 $22,57\pm8,14$ 29,08±6,77 p1-2=0.013Омега-6 23,57(17,9; 29,63(23,5; 28,86(24,1; 4,772 0,001 p1-3 < 0,000134,15) 27,75) 33,63) 2.58+1.36 4,16±2,18 4.5+1.98 p1-2 < 0.001Омега-3 (EPA+DHA) 2,39(1,89; 3,77(2,63; 4,10(3,10; 6,073 10^{-5} p1-3< 0,0001 3,14) 5,65) 5,83) 6,58±3,04 5,74±3,56 5,16±2,09 p1-2=0,031омега-6/омега-3 2,483 0,046 4,74(3,7; 6,08) 5,87(4,5; 8,11) 5,06(3,7; 6,11) p1-3 < 0.001p1-2=0,0481,43±0,93 1,00±0,57 насышенные./ 1.09 ± 0.7 2,012 0.095 1,04(0,8; 1,97) 0,88(0,7; 1,09) 0,83(0,7; 1,08) p1-3< 0,001 ненасыщенные 2,36±1,66 1,68±1,08 1,51±0,86 Насышенные / полиp1-2=0.0211,82(1,42; 1,30(0,97; 1,28(0,95; 3,294 0,013 ненасыщенные p1-3< 0,0001 1,98) 3,01) 1,82) $p1-2=\overline{0,02}$ Индекс ненасыщен- $3,72\pm0,25$ 4,17±0,21 $4,50\pm0,18$ 2,112 0,05 ности ЖК (×10³) p1-3=0,03

Таблица 3. Индексы жирных кислот при КРР различной локализации и лиц группы сравнения (M±SD; Me (25%; 75%).

опухоли при КРР – снижение процентного суммарного содержания насыщенных, мононенасыщенных, повышение уровня ненасыщенных, в том числе, полиненасыщенных с преобладанием омега-3, в связи с чем отмечено снижение отношения омега-6/омега-3 (р<0,00001–0,05). Изменения соотношений насыщенных и ненасыщенных ЖК в пользу последних сказалось на снижении индексов насыщенные/ненасыщенные, насыщенные/ПНЖК по сравнению со здоровыми (р=0,013). Сравнение проксимальной и дистальной локализации опухоли по вышеуказанным индексам позволило выявить лишь тенденции изменений, не достигающих уровня достоверности. При этом правосторонние

КРР опухоли оказались ассоциированы с большими уровнями насыщенных, мононенасыщенных ЖК, индексов омега-6/омега-3, насыщенные/ ненасыщенные, насыщенные/ПНЖК; напротив, в случае левосторонних локализаций образования несколько выше были уровни ненасыщенных, в том числе, полиненасыщенных, как омега-3, так и омега-6, по сравнению с проксимальными опухолями. Индекс ненасыщенности у пациентов с КРР оказался достоверно выше, чем у здоровых лиц (р=0,02-0,03), при этом дистальная локализация оказалась ассоциированной с большей степенью ненасыщенности, чем проксимальная (на уровне тенленции).

Обсуждение

Жирные кислоты являются очень важными биологическими соединениями, которые могут быть связаны с различными заболеваниями (например, диабетом) или ассоциированы с повышенным риском определенного рака. В настоящем исследовании использован жирнокислотный состав мембран эритроцитов в качестве биомаркера для различения КРР опухолей различных локализаций, поскольку он считается более стабильным, чем уровни жирных кислот сыворотки крови, в связи с большей зависимостью последних от диетических привычек [16]. Различия в метаболитах, в том числе липидных, при локализации опухолевого процесса в разных частях толстой кишки обусловлены рядом обстоятельств. В процессе эмбриогенеза проксимальная и дистальная части толстой кишки являются производными разных отделов первичной кишки средней и задней, соответственно [17]. Различия в гистологической структуре, кровоснабжении, лимфооттоке, физиологии разных отделов кишки предполагает различный состав метаболитов при развитии воспалительного и опухолевого процесса.

Подобное явление наблюдали Farshidfaret F. et al. [10] при выявлении метастазов разных локализаций при КРР; авторы связали различные метаболические профили с разной реакцией микроокружения кишки на воспаление и пролиферацию. Так, Liang X. et al. [18] доказали разную активность iNOS и COX-2 в процессе развития воспаления в дистальной и проксимальной частях кишки на мышиной модели. Jia H. J. et al. [19] выявили различный цитокиновый профиль, связанный с уровнем жирных кислот сыворотки крови при КРР разных локализаций.

Существенную роль в метаболическом паттерне при КРР играет состав микробиоты, который изменяется на ранних стадиях заболевания и отличен в разных отделах толстой кишки [20]. Yachida S. et al. показали, что на развитие рака могут указывать микроорганизмы Fusobacterium nucleatum и Atopobium parvulum [21]. По мнению Alhinai E. A. et al. микробные виды, связанные с КРР, включают, среди прочих, некоторые штаммы Bacteroides fragilis, Escherichia coli, Streptococcus gallolyticus, Enterococcus faecalis и Fusobacterium nucleatum, которые оказывают существенное влияние на липидные метаболиты и ассоциированы с разными частями толстой кишки [22].

Следует принять во внимание, что разные части кишки имеют различные молекулярные и регуляторные механизмы развития опухоли. Так, проксимальные опухоли в большей степени ассоциированы с микросателлитной нестабильностью ДНК, СІМР+, ВRAF-мутациями, сигнальными путями МАРК, мутагенными метаболитами СҮР 450. Дистальные опухоли чаще связаны с наличием хромосомной нестабильности, АРС, K-RAS, DCC, р53- мутациями, активацией сигнальных путей EGFR, Wnt, HER1, HER2 [23].

Следует указать на вовлеченность жирных кислот в данные метаболические пути. Снижение уровней миристиновой С14:0 и пентадекановой С15:0 насыщенных ЖК при развитии дистальных КРР опухолей может быть связано с их избыточным расходом в ходе ацилирования секретируемых сигнальных белков метаболических путей Hedgehog, Wnt, что приводит к значительному возрастанию их активности с последующим влиянием на пролиферацию, дифференциацию и миграцию клеток [24]. В связи с большей активностью данных метаболических путей при левосторонней локализации опухоли, вероятен, избыточный расход насыщенных ЖК.

В настоящей работе выявлены достоверно повышенные уровни α-линоленовой (С18:3; n-3) и сниженные – большей части омега-6 ПНЖК (С18:2 n-6, С20:3 n-6, С20:4 n-6) и одной омега-3 ПНЖК – С22:6 n-3 при проксимальной локализации опухолей по сравнению с дистальной. Возможно, подобные сдвиги связаны с большей активацией арахидонового каскада с образованием простагландинов, лейкотриенов и тромбоксанов различных серий с провоспалительными и пролиферативными свойствами при левосторонних КРР опухолях.

Данные исследователей, изучавших профили жирных кислот в зависимости от локализации опухоли, неоднозначны. Так, Bugajska J. et al.

установили, что средний уровень эйкозапентаеновой ЖК (C20:5, n-3) и индекс ненасыщенности у пациентов с колоректальным раком имели наименьшее значение у пациентов с опухолями, локализованными в проксимальной части толстой кишки [25]. В настоящем исследовании выявлена лишь та же тенденция по индексу ненасыщенности.

Наши данные по повышенному уровню эйкозапентаеновой ЖК при КРР противоположны результатам Fernandez-Bañareset F. al. [26] и Okuno M. et al. [12], которые наблюдали значительно более низкий процент данной ЖК в плазме крови у пациентов с колоректальным раком по сравнению с контрольной группой. Однако, цитируемые авторы [12] не обнаружили существенных различий в соотношении жирных кислот между пациентами с раком толстой кишки различных локализаций, что согласуется с нашими результатами. Fernandez-Bañares F. et al. [26] заметили значительно более низкий индекс ненасыщенности у больных раком по сравнению с контрольной группой. Группа, исследованная ими, состояла из пациентов с опухолями прямой, сигмовидной и слепой кишок, а также восходящей ободочной кишки, но авторы не сравнивали индекс между подгруппами пациентов.

По результатам настоящего исследования уровень линолевой кислоты у пациентов с КРР достоверно не отличался от контроля, однако, дистальные опухоли ассоциированы с большим уровнем этой кислоты, чем проксимальные. Содержание арахидоновой кислоты оказалось достоверно выше у пациентов с КРР, чем у здоровых лиц, с большими значениями С20:4 п-6 при левосторонней локализации процесса. Результаты исследования Okuno М. продемонстрировали незначительные различия для C18:2 n-6 и C20:4 n-6 между пациентами с колоректальным раком и контрольной группой [12]. Fernandez-Bañares F. et al. [26] и Baro L. et al. [6] показали значительно более низкое процентное содержание линолевой кислоты у пациентов с колоректальным раком, чем в контрольной группе, в то время как уровень арахидоновой кислоты был аналогичен контролю. Напротив, в исследовании Bugajska J. et al. уровень C18:2n-6 был выше, тогда как уровень С20:4 п-6 был ниже у пациентов с колоректальным раком, независимо от локализации опухоли [25]. Baró L. et al. [6] было показано, что сниженные уровни линолевой кислоты в мембранах эритроцитов могут повышать активность ферментативной системы – дезатуразы σ-6-ЖК в печени, приводя к значительному повышению уровня арахидоновой кислоты, что согласуется с результатами настоящего исследования. Кроме того, Jones R. et al. [27] показали, что в процессе онкогенеза эпителиальные клетки толстой кишки быстрее транспортируют пищевую линолевую кислоту и превращают ее в арахидоновую.

Уровни докозагексаеновой ЖК и суммы омега-3 ПНЖК в нашей работе оказались выше у пациентов с КРР, чем в группе сравнения, причем содержание данных ЖК в случаях дистальной локализации опухоли оказалось достоверно выше такового при проксимальной. Эти результаты противоположны данным Bugajska J. et al., которые показали, что средние концентрации C22:6 n-3 и ПНЖК n-3 были

ниже у пациентов с раком, расположенным во всех отделах толстой кишки по сравнению с контрольной группой. Тем не менее, в трех других исследованиях не было значимых различий по процентному содержанию докозагексаеновой кислоты между пациентами с колоректальным раком и здоровым контролем [12, 28, 29]. Hodge et al. [5] заметили обратную связь между уровнем докозагексаеновой кислоты в плазме и риском развития рака прямой кишки. Напротив, Zhang P. et al. [5] установили, что повышенные сывороточные уровни омега-3, омега-6, линолевой и докозагексаеновой жирных кислот, С20:4 n-6/ (С20:5 n-3 +С22:6 n-3) ассоциированы с увеличением риска развития КРР из полипов. Показано, что при высокой концентрации омега-3 ПНЖК могут встраиваться в мембранные фосфолипиды, изменяя их текучесть, в результате чего происходит ингибирование пролиферации Т-клеток. Кроме того, высокий уровень ПНЖК стимулирует активацию ПОЛ с образованием ROS, вызывая появление генетических мутаций и инициирование колоректального канцерогенеза.

Различия в уровнях жирных кислот у пациентов с КРР, наблюдаемые в представленных исследованиях, могут быть обусловлены изучением различных биологических образцов (сыворотка, плазма, мембраны эритроцитов), модификацией метаболизма жирных кислот у онкологических больных, и частично – различиями в привычках питания, расе обследуемых и географических областях, что может оказать влияние на жирнокислотный профиль [14].

Проведенное нами пилотное исследование не лишено ограничений и недостатков. С одной стороны, это ограниченное число пациентов с КРР; для подтверждения наших результатов требуется крупномасштабное проспективное исследование. Очевидно, что при проведении анализа уровня и соотношений жирных кислот необходимо одномоментно учитывать стадию и локализацию процесса. С другой стороны, при изучении содержания жирных кислот любого происхождения, правиль-

ный выбор группы сравнения является практически нерешенной проблемой из-за доступности различных диет и большого количества пищи, потребляемой каждым человеком, что предполагает индивидуальные и межиндивидуальные вариации. В настоящей работе данный аспект минимизирован выбором более стабильных с точки зрения состава ЖК мембран эритроцитов как объекта исследования, но все же этот момент присутствует.

Таким образом, исследование особенностей уровней жирных кислот мембран эритроцитов в зависимости от локализации опухоли при колоректальном раке позволило выявить ряд особенностей: установлена большая степень снижения насыщенных, мононенасыщенных ЖК, и, напротив, повышения ПНЖК у пациентов с дистальной локализацией опухоли по сравнению со здоровыми, чем то же соотношение в паре «проксимальная локализация КРР опухоли – здоровые». Отмечена большая степень повышения уровня омега-3 ПНЖК, чем омега-6, что сказалось на соотношении п-6/ п-3, которое было значимо снижено у больных с раком, в большей степени при дистальной локализации опухоли.

Наиболее значимыми для различения опухолей, локализующихся в различных частях кишки, оказались: насыщенные жирные кислоты – миристиновая С14:0 и пентадекановая С15:0, омега-3 а-линоленовая (С18:3; п-3), уровни которых были достоверно выше и, напротив, большая часть омега-6 ПНЖК (С18:2 п-6, С20:3 п-6, С20:4 п-6) и одна омега-3 ПНЖК – С22:6 п-3, уровни которых оказались достоверно ниже при проксимальной локализации опухоли, чем при дистальной. Суммарный индекс ненасыщенности при проксимальной локализации оказался ниже, чем при дистальной, хотя степени достоверности эти различия не достигали.

Полученные результаты свидетельствуют, что при проведении исследований метаболических профилей, в том числе, жирнокислотных, у пациентов с колоректальным раком необходимо учитывать локализацию опухоли.

Работа выполнена в рамках темы «Эпидемиологический мониторинг состояния здоровья населения и изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространенных терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их диагностике, профилактике и лечению» ГЗ № 0324–2018–0001, Per. № AAAA-A17–117112850280–2.

Литература | References

- Bufill J. A. Colorectal cancer: evidence for distinct genetic categories based on proximal or distal tumor location. Ann. Intern. Med, 1990, Vol. 113, No. 10, pp. 779–788.
- Li F., Lai M. Colorectal cancer, one entity or three. J. Zhe-Jiang Univ. Sci. B. 2009, Vol. 10, No. 3, pp. 219–229. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2650032/
- Glade M. J. Food, nutrition, and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research, 1997. Nutrition, 1999, Vol. 15, No. 6, pp. 523–526.
- 4. Sasazuki S., Inoue M., Iwasaki M., Sawada N., Shimazu T., Yamaji T., et al. Intake of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids and development of colorectal cancer by

- sub-site: Japan Public Health Center-based prospective study. Int. J. Cancer, 2011, Vol. 129, no. 7, P. 1718–1729.
- Hodge A. M., Williamson E. J., Bassett J. K., MacInnis R. J., Giles G. G., English D. R. Dietary and biomarker estimates of fatty acids and risk of colorectal cancer. Int. J. Cancer, 2015, Vol. 137, no. 5, P. 1224–1234.
- Baro L., Hermoso J. C., Nunez M. C., Jimenez-Rios J. A., et al. Abnormalities in plasma and red blood cell fatty acid profiles of patients with colorectal cancer. Br. J. Cancer. 1998, Vol. 77, pp. 1978–1983.
- 7. Qiu Y., Cai G., Su M., Chen T., Zheng X., Xu Y., Ni Y., Zhao A., Xu L. X., Cai S., Jia W. Serum metabolite profiling of human colorectal cancer using GC-TOFMS and UPLC-QTOFMS. J. Proteome Res. 2009, Vol. 8, no. 10, pp. 4844–4850.

- 8. Kondo Y., Nishiumi S., Shinohara M., Hatano N., Ikeda A., Yoshie T. Serum fatty acid profiling of colorectal cancer by gas chromatography mass spectrometry. Biomark. Med. 2011, Vol. 5, no. 4, pp. 451–460.
- Li F., Qin X., Chen H., Qiu L. et al. Lipid profiling for early diagnosis and progression of colorectal cancer using direct-infusion electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. Rapid Commun. Mass Spectrom, 2013, Vol. 27, pp. 24–34.
- Farshidfaret F., Weljie A. M., Kopciuk K., et al. Serum metabolomic profile as a means to distinguish stage of colorectal cancer. Genome Medicine. 2012, Vol. 4, pp. 42–49.
- Amézaga J., Arranz S., Urruticoechea A., et al. Altered Red Blood Cell Membrane Fatty Acid Profile in Cancer Patients. Nutrients. 2018, Vol. 10, no. 12, pp. E1853(6).
- Okuno M., Hamazaki K., Ogura T., Kitade H. et al. Abnormalities in Fatty Acids in Plasma, Erythrocytes and Adipose Tissue in Japanese Patients with Colorectal Cancer. In Vivo. 2013. Vol. 27, pp. 203–210.
- Zhang P., Wen X., Gu F., Zhang X. et al. Role of serum polyunsaturated fatty acids in the development of colorectal cancer. Int. J. Clin. Exp. Med. 2015. Vol. 8, no. 9, pp. 15900–15909.
- 14. Arab L., Akbar J. Biomarkers and the measurement of fatty acids. Public Health Nutr. 2002, Vol. 5, pp. 865–871.
- 15. Кручинина М. В., Кручинин В. Н., Прудникова Я. И., Громов А. А., Шашков М. В., Соколова А. С. Исследование уровня жирных кислот мембран эритроцитов и сыворотки крови у пациентов с колоректальным раком г. Новосибирска. Успехи молекулярной онкологии. 2018. Т. 5, № 2. С. 50–61. Kruchinina M. V., Kruchinin V. N., Prudnikova Ya.I., Gromov A. A., Shashkov M. V., Sokolova A. S. Study of the level of fatty acids of erythrocyte membranes and blood serum in patients with colorectal cancer g Novosibirsk. Advances in molecular oncology. 2018;5(2):50–61.
- Katan M. B., van Birgelen A., Deslypere J. P., Penders M., van Staveren W. A. Biological markers of dietary intake, with emphasis on fatty acids. Ann. Nutr. Metab. 1991, Vol. 35, pp. 249–252.
- 17. Подкаменев А. В., Козлов Ю. А., Павлов А. В. Непроходимость желудочно-кишечного тракта у детей М: ГЭОТАР-Медиа, 2017 г. 752 с.
 - Podkamenev A. V., Kozlov Yu.A., Pavlov A. V. Obstruction of the gastrointestinal tract in children Moscow. GEOTAR-Media, 2017. 752 p.

- Liang X., Bittinger K., Li X., Abernethy D. R., Bushman F. D., FitzGerald G. A. Bidirectional interactions between indomethacin and the murine intestinal microbiota. eLife. 2015, Vol. 4, pp. e08973(7).
- Jia H. J., Zhang P. J., Liu Y. L., Jiang C. G., Zhu X., Tian Y. P. Relationship of serum polyunsaturated fatty acids with cytokines in colorectal cancer. World Journal of Gastroenterology. 2016, Vol. 22, no. 8, pp. 2524–2532.
- 20. *Bultman S. J.* Interplay between diet, gut microbiota, epigenetic events, and colorectal cancer. Mol. Nutr. Food Res. 2017, Vol. 61, pp. 1–12.
- Yachida S., Mizutani S., Shiroma H., et al. Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer. Nat. Med. 2019, Vol. 25, no. 6, pp. 968–976.
- 22. Alhinai E. A., Walton G. E., Commane D. M. The Role of the Gut Microbiota in Colorectal Cancer Causation. Int. J. Mol. Sci. 2019, Vol. 20, pp. 21–29.
- Bae J. M., Kim J. H., Cho N. Y., Kim T., Kang G. H. Prognostic implication of the CpG island methylator phenotype in colorectal cancers depends on tumour location. British Journal of Cancer. 2019, V. 109, no. 4, pp.1004–1012.
- 24. *Yan G., Li L., Zhu B., Li Y.* Lipidome in colorectal cancer. Oncotarget. 2016, Vol. 7, pp. 33429–33439.
- Bugajska J., Berska J., Hodorowicz-Zaniewska D., Sztefko K. Composition and concentration of serum fatty acids of phospholipids depend on tumor location and disease progression colorectal patients. J. Med. Biochem, 2018, Vol. 37, pp. 1–9.
- 26. Fernandez-Banares F., Esteve M, et al. Changes of the mucosal n3 andn6 fatty acid status occur early in the colorectal adenoma-carcinoma sequence. Gut. 1996, Vol. 38, no. 2, pp. 254–259.
- Jones R., Adel-Alvarez L.-A., Alvarez O. R., Broaddus R., Das S. Arachidonic acid and colorectal carcinogenesis. Mol. Cell Biochem. 2003, Vol. 253, N1–2, pp. 141–149.
- Chapkin R. S., Davidson L. A., Ly L., Weeks B. R., Lupton J. R., Mc Murray D. N. Immunomodulatory effects of (n-3) fatty acids: putative link to inflammation and colon cancer. J. Nutr. 2007, Vol. 137, no. 1, pp. 2008-2048.
- 29. Yuksel M., Ates I., Kaplan M., Fettah A. M., et al. Is oxidative stress associated with activation and pathogenesis of inflammatory bowel disease?. J. Med. Biochem. 2017, Vol. 36, pp. 45–49.