

ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА ЖИРНЫХ КИСЛОТ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЙ

Кручинина М. В.^{1,2}, Осипенко М. Ф.², Кручинин В. Н.³, Прудникова Я. И.¹, Громов А. А.¹, Шашков М. В.⁴, Соколова А. С.⁵

¹ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (630089, Новосибирск, Россия)

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (630091, Новосибирск, Россия)

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физики полупроводников им. А. В. Ржанова Сибирского отделения Российской академии наук (630090, Новосибирск, Россия)

⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт катализа им. Г. К. Борескова СО РАН (630090, Новосибирск, Россия)

⁵ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН (630090, Новосибирск, Россия)

FEATURE OF COMPOSITION OF FATTY ACIDS OF ERYTHROCYTE MEMBRANES IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER OF DIFFERENT STAGES

Kruchinina M. V.^{1,2}, Osipenko M. F.², Kruchinin V. N.³, Prudnikova Ya. I.¹, Gromov A. A.¹, Shashkov M. V.⁴, Sokolova A. S.⁵

¹ Research Institute of Internal and Preventive Medicine — Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, 630089, Russia)

² Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Novosibirsk State Medical University» of the Ministry of Health of Russia (FSBEI HE NSMU MOH Russia) (630091, Novosibirsk, Russia)

³ Rzhanov Institute of Semiconductor Physics Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, 630090, Russia)

⁴ Boreskov Institute of Catalysis SB RAS (Novosibirsk, 630090, Russia)

⁵ Vorozhtsov Institute of Organic Chemistry Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, 630090, Russia)

Для цитирования: Кручинина М. В., Осипенко М. Ф., Кручинин В. Н., Прудникова Я. И., Громов А. А., Шашков М. В., Соколова А. С. Особенности состава жирных кислот мембран эритроцитов у пациентов с колоректальным раком различных стадий. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018;155(7): 102–111.

For citation: Kruchinina M. V., Osipenko M. F., Kruchinin V. N., Prudnikova Ya. I., Gromov A. A., Shashkov M. V., Sokolova A. S. Feature of composition of fatty acids of erythrocyte membranes in patients with colorectal cancer of different stages. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2018;155(7): 102–111.

**Кручинина
Мargarita Витальевна**
Kruchinina Margarita V.

Кручинина М. В. — д.м.н., вед. науч. сотр. Лаборатории гастроэнтерологии; доцент Кафедры пропедевтики внутренних болезней

Осипенко М. Ф. — профессор, д.м.н., заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней НГМУ, ученый секретарь НГМУ

Кручинин В. Н. — к.х.н., науч. сотрудник Лаборатории эллипсометрии

Прудникова Я. И. — аспирант Лаборатории гастроэнтерологии

Громов А. А. — к.м.н., ст. науч. сотр. Лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний

Шашков М. В. — к.х.н., науч. сотр. Аналитической лаборатории

Соколова А. С. — к.х.н., науч. сотр. Лаборатории физиологически активных веществ

Kruchinina M. V. — DSc, Leading researcher of Laboratory of Gastroenterology; Assistant professor of Department of propaedeutics of internal diseases

Osipenko M. F. — DSc, Professor, Head of Department of propaedeutic of internal diseases

Kruchinin V. N. — PhD, Research scientist of Laboratory of Ellipsometry

Prudnikova Ya. I. — PhD student of Laboratory of Gastroenterology

Gromov A. A. — PhD, senior researcher, Laboratory of clinical, biochemical and hormonal studies of internal diseases

Shashkov M. V. — PhD, Research scientist of Analytical Laboratory

Sokolova A. S. — PhD, Research scientist of Laboratory of physiologically active substrates

Резюме

С помощью высокочувствительной хромато-масс-спектрометрии (Agilent 7000B, США) с анализатором на основе тройного квадруполя и источником электронной ионизации) с последующей статистической обработкой результатов измерений исследован жирнокислотный состав мембран эритроцитов пациентов с колоректальным раком (63,2±9,4 года; 57 мужчин, 43 женщины) различных стадий и локализаций, и лиц группы сравнения (61,7±7,5 года; 14 мужчин, 10 женщин).

В результате проведенного исследования выявлены достоверные различия уровней жирных кислот (ЖК) в фосфолипидах мембран эритроцитов у пациентов с колоректальным раком, ассоциированные со стадией заболевания, и здоровых лиц. У больных колоректальным раком (КРР) в сравнении с группой контроля установлено нарастание уровня полиненасыщенных жирных кислот, преимущественно за счет омега-3 (в том числе, докозапентаеновой, докозагексаеновой), начиная с ранних стадий КРР ($p < 0,001-0,05$) и снижение уровня насыщенных C14:0, C15:0, C17:0 ($p < 0,01-0,02$), мононенасыщенных (C16:1;7, C16:1;9, C18:1; $t9p < 0,001-0,04$) жирных кислот, а также соотношения

омега-6/омега-3 полиненасыщенных жирных кислот ($p < 0,001$), коррелирующие со стадией КРР. Выявленные сдвиги указывают на изменение метаболизма жирных кислот в процессе канцерогенеза. Особенности различий состава жирных кислот мембран эритроцитов пациентов с КРР различных стадий позволяют сделать вывод о возможности их использования в диагностике заболевания с акцентом на ранние сроки развития болезни.

На основании полученных результатов показано, что необходимы дальнейшие исследования отдельных фракций ЖК и их роли в прогрессировании заболевания.

Ключевые слова: мембраны эритроцитов, жирные кислоты, колоректальный рак, хромато-масс-спектрометрия

Summary

With the aim of highly sensitive chromatography- mass spectrometry (Agilent 7000B, USA) with triple quadrupole analyzer and electron ionization source). Followed by statistical processing of measurement results the fatty acid composition of erythrocyte membranes in patients with colorectal cancer (63,2+9,4 years; 57 men, 43 women) of different stages and localizations and persons of comparison group (61,7+7,5 years; 14 men, 10 women) was studied.

The study revealed significant differences in fatty acid (FA) levels in erythrocyte membrane phospholipids in patients with colorectal cancer associated with the stage of disease and in control group. Patients with colorectal cancer (CRC) compared to the control group was set to increase level of polyunsaturated fatty acids, mainly due to the omega-3 (including docosapentaenoic, docosahexaenoic), since the early stages of CRC ($p < 0,001-0,05$) and a decrease in the level of saturated C14:0, C15:0, C17:0 ($p < 0,01$ to 0,02), monounsaturated (C16:1;7, C16:1;9, C18:1; t9 $p < 0,001-0,04$) fatty acids, and the ratio of omega-6/omega-3 polyunsaturated fatty acids ($p < 0,001$), correlating with the stage of CRC. The detected shifts indicate a change in the metabolism of fatty acids in the process of carcinogenesis. The peculiarities of the differences in the fatty acid composition of erythrocyte membranes in patients with CRR of different stages make it possible to conclude that they can be used in the diagnosis of the disease with an emphasis on the early stages of the disease.

On the basis of the obtained results it is shown that further studies of individual fractions of LC and their role in the progression of the disease are necessary.

Key words: erythrocyte membranes, fatty acids, colorectal cancer, chromatography-mass spectrometry

Работа выполнена в рамках ГЗ № 0324–2018–0002.

Авторы выражают глубокую благодарность сотрудникам ГБУЗ НСО «НООД», оказавшим содействие и помощь при обследовании пациентов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Введение

Колоректальный рак (КРР) является одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований во всем мире и основной причиной смерти из-за неопластической болезни в западных регионах. Заболеваемость КРР растет как в развитых, так и в развивающихся странах (Kolligs F. T., 2016) [1]. Патогенез инициирования и прогрессирования КРР является сложным и гетерогенным и, в основном, зависит как от генетической предрасположенности, наличия хронических воспалительных заболеваний кишечника: болезни Крона, язвенного колита, так и от воздействия экологических и пищевых факторов (Grundmann E., 1985, Yang G., 2006) [2, 3].

В течение последних десятилетий были выявлены связи между нарушениями липидного обмена и развитием КРР [4, 5]. Особое внимание было приковано к изменению состава и уровня жирных кислот (ЖК). В исследованиях *in vivo* и *in vitro* представлены некоторые предполагаемые механизмы действия, с помощью которых ЖК модулируют различные стадии канцерогенного процесса, касающиеся клеточной пролиферации, апоптоза, экспрессии генов, метаболизма и ангиогенеза (Escrich E. et al., 2006; Abel S. et al., 2014; Kopke S. et al., 2015; Pellatt A. J. et al., 2016) [6–9]. Исследования состава жирных кислот

в опухолевой ткани, сыворотке крови, подкожно-жировой клетчатке, эритроцитах зачастую демонстрировали несогласующиеся результаты [10–12], связанные, вероятно, как с различными методическими подходами, объектами исследования, неоднородностью исследуемых групп, так и недостаточным пониманием функций и метаболизма различных ЖК, их производных при воспалении и канцерогенезе.

Исследование состава ЖК мембран эритроцитов позволяет оценить липидный профиль организма за период более нескольких месяцев, что существенно больше, чем состав ЖК плазмы крови, где данные уровни более переменчивы [12].

Профилирование ЖК предполагает возможности их использования в качестве биомаркеров для диагностики КРР с акцентом на ранние стадии и прогноз течения данного заболевания, а также определения новых таргетов для лечения в связи с углублением понимания роли отдельных жирных кислот в онкогенезе.

Цель работы: исследовать особенности состава жирных кислот мембран эритроцитов пациентов с КРР различных стадий для оценки возможности использования этой информации в диагностике заболевания с акцентом на ранние стадии, признаки прогрессирования.

Материалы и методы

Группы обследуемых

Обследованы 100 пациентов с КРР (средний возраст 63,2±9,4 лет, из них – 57 мужчин и 43 женщины) и 24 человека группы сравнения, сопоставимых по возрасту и полу (средний возраст 61,7±7,5 лет, из них – 14 мужчин и 10 женщин). Больные, поступившие в ГБУЗ НСО «Новосибирский областной онкологический диспансер» с гистологически подтвержденным колоректальным раком (аденокарцинома), были включены в исследование при выполнении следующих критериев – отсутствие: потери веса тела (самоотчет), диетических ограничений из-за непроходимости кишечника, серьезного сопутствующего заболевания (сахарный диабет, 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. У 45 пациентов выявлены ранние стадии заболевания (I стадия – в 7, II – в 38 случаях), оставшиеся 55 больных оказались с продвинутыми стадиями колоректального рака (III стадия – у 37 человек,

IV – у 18). Пациенты с четвертой стадией имели разную локализацию метастазов: в большинстве случаев (12 пациентов) выявлены отдаленные метастазы в печень, у 4-х больных – множественные метастазы в печень и легкие, в двух случаях – метастазы в печень и брюшину.

Локализация опухолей была различна. У 25 пациентов опухоль выявлена в проксимальной части толстой кишки, включая слепую кишку (8), восходящий (8) и поперечно-ободочный (7) отделы толстой кишки; в 29 случаях очаг локализовался в дистальной ободочной кишке: в нисходящей (2) и сигмовидной (27); у значительного числа пациентов (47) опухоль обнаружена в прямой кишке. 1 пациент имел первично-множественную локализацию опухолей в толстой кишке.

В качестве группы сравнения были отобраны пациенты, сопоставимые с основной группой по возрасту и полу, которым при обследовании в ГБУЗ НСО «НООД» 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 значительные отклонения по данным исследования общего анализа крови или биохимии или имели холестериновые камни в желчном пузыре [13].

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.

Сбор образцов крови и пробоподготовка

Забор крови у пациентов и ее исследование проводили при поступлении в стационар до проведения всех видов терапии после ночного голодания (12–14 ч): 8–9 мл – в пробирку без антикоагулянта для получения сыворотки и 8–9 мл – в пробирку с 3,8% раствором цитрата натрия (0,129 моль/л, соотношение цитрата к количеству крови 1:9) для последующего получения взвеси эритроцитов.

Для получения сыворотки проводили центрифугирование цельной крови при 2000 об./мин. в течение 20 минут, затем сыворотку переносили в пробирку меньшего объема для исследования.

Для получения взвеси эритроцитов пробирку с антикоагулянтом центрифугировали при 2000 об./

мин. в течение 20 минут и удаляли плазму. Полученные эритроциты отмывали фосфатным буфером, содержащим 0,103M Na₂HPO₄ и 0,155M KH₂PO₄, pH=7,36, без добавления комплексообразующих соединений с трехкратным центрифугированием со скоростью 2000 об./мин. при температуре 2–3°C в течение 20 мин. Мембраны эритроцитов получали путем гемолиза клеток дистиллированной водой. К 0,5 мл взвеси отмытых эритроцитов добавляли 1,5 мл дистиллированной воды, тщательно встряхивали и центрифугировали в течение 15 минут со скоростью 10000 об./мин. После удаления супернатанта, процедуры добавления дистиллированной воды и центрифугирования повторяли.

Процедура экстракции и переэтерификации

Образцы мембран эритроцитов экстрагировали смесью хлороформ/метанол (2:1) 1 мл. Для этого образцы суспендировали в 0,5 мл хлороформ/метанольного экстрагента. Добавляли 0,5 мл фосфатного буфера, после чего интенсивно встряхивали в течение нескольких минут. Органическая фаза затем переносилась в чистую vortex-пробирку. Водная фаза еще раз экстрагировалась 0,5 мл хлороформ/

метанольной смеси. Органическая фаза объединялась с первой порцией. Растворитель удалялся досуха путем отдувки сухим аргоном. Далее проводилась переэтерификация. Для этого добавлялся 0,5 мл 0,5M p-p KOH в метаноле. Далее проводилась обработка при комнатной температуре в течение 1 часа при периодическом встряхивании. После окончания реакции проводили двукратную экстракцию

полученных эфиров *n*-гексаном по 0,5 мл. Экстракт переносили в стеклянные флаконы и отдували сухим азотом до объема 50 мкл. Полученные образцы использовали для анализа жирных кислот.

Анализ метиловых эфиров

Анализ образцов, содержащих метиловые эфиры жирных кислот проводился помощью хромато-масс-спектрометра с анализатором на основе тройного квадруполя и источником электронной ионизации (70 эВ). Продукты реакции анализировали на разработанной в аналитической лаборатории Института катализа СО РАН высокополярной хроматографической колонке 25м×0,22мм×0,2мкм с помощью ионной жидкости 4*PrMPu* по оригинальной методике [14]. Концентрации ЖК выражали в относительных

Для анализа сыворотки: 0,5 мл исходной сыворотки экстрагировали 0,5 мл смеси хлороформ/ метанол (2:1), далее процедура пробоподготовки аналогична процедуре для мембран эритроцитов [14].

процентах [15]. Предел обнаружения жирной кислоты ~ 1 мкг на образец.

Сумма омега-3 (*n*-3) полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) включала следующие 4 соединения: С18:3 *n*-3 (α -линоленовая), С20:5 *n*-3 (эйкозапентаеновая – ЕРА), С22:5 *n*-3 (докозапентаеновая) и С22:6 *n*-3 (докозагексаеновая – ДНА) кислоты.

Сумма омега-6 (*n*-6) ПНЖК включала 5 соединений: С18:2 *n*-6 (линолевая), С20:2 *n*-6 (докодиеновая), С20:3 *n*-6 (дигомо- γ -линоленовая), С20:4 *n*-6 (арахидиновая), С22:4;7,10,13,16 (докозатетраеновая) кислоты.

Статистическая обработка данных

Выполнена с использованием программы SPSS, ver.17. Достоверность различия показателей оценивали по критериям Стьюдента, Пирсона в случае, когда распределение подчинялось нормальному закону; в случаях отклонения распределения от нормального закона использовали непараметрические критерии (U-критерий Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова). Во всех процедурах

статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы (*p*) принимался равным 0,05. Для дифференцирования состава жирных кислот в сыворотке крови и мембранах эритроцитов между лицами группы сравнения и пациентами с КРР использован метод главных компонент с применением программы Statistica 10.0.228.8.

Результаты

Результаты анализа содержания ЖК в мембранах эритроцитов в группах больных КРР разных стадий и группе сравнения приведены в таблице 1. Как показывают полученные результаты, содержание жирных кислот существенно различно как в группах больных КРР, так и между группами больных КРР и группой здоровых лиц. При анализе различий были выявлены следующие закономерности.

При 1-й стадии КРР в мембранах эритроцитов достоверно выше, чем у здоровых, оказалось содержание двух полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) С22:5;7,10,13,16,19 (докозапентаеновой) и С22:6;4,7,10,13,16,19 (докозагексаеновой) (*p*<0,05). Отмечены также тенденции к повышению уровня насыщенной ЖК (НЖК) С20:0 (эйкозано-вой, арахидиновой) (*p*<0,07) и полиненасыщенной С18:3;6,9,12 (октадекатриеновой, γ -линоленовой) (*p*<0,08), а также суммы всех омега-3 ЖК (*p*<0,06) и ПНЖК омега-3(ЕРА+ДНА) (*p*<0,07). В то же время соотношения омега-6/омега-3, НЖК / ПНЖК демонстрировали тенденции к снижению (*p*<0,08).

При 2-й стадии КРР в мембранах эритроцитов достоверно выше, чем в группе сравнения, оказался уровень целого ряда ПНЖК (С20:2 (докодиеновой) (*p*<0,02), С20:3 (дигомо- γ -линоленовой) (*p*<0,001), С20:4 (арахидиновой) (*p*<0,001), С22:4 (докозатетраеновой) (*p*<0,001), С22:5 (докозапентаеновой) (*p*<0,001), С22:6 (докозагексаеновой) (*p*<0,001), суммы всех ненасыщенных ЖК (ННЖК) (*p*<0,03), ПНЖК (*p*<0,001), омега-3 ЖК (*p*<0,01), омега-3 ЖК (ЕРА+ДНА) (*p*<0,001), а также НЖК – С20:0 (эйкозано-вой, арахидиновой) (*p*<0,01).

Напротив, достоверно ниже при 2-й стадии КРР в отличие от здоровых в мембранах эритроцитов

оказалось содержание НЖК (С14:0 тетрадекановой (миристиновой) (*p*<0,02), С15:0 пентадекановой (*p*<0,02), С17:0 гептадекановой (маргарино-вой) (*p*<0,01), суммы всех насыщенных ЖК (*p*<0,03) и мононенасыщенных МНЖК (С16:1;7 – цис-7-гексадекановой (пальмитоолеиновой) (*p*<0,02); С16:1;9- цис-9-гексадекановой (пальмитоолеиновой) (*p*<0,04); С18:1; т9 – транс-9-октадекановой (элаидиновой) (*p*<0,04), суммы МНЖК (*p*<0,001). Закономерно, что соотношения омега-6/омега-3 ЖК (*p*<0,001), НЖК / ННЖК (*p*<0,03), НЖК / ПНЖК (*p*<0,01) были также достоверно ниже у пациентов с КРР. Следует отметить, что уровни пальмитиновой ЖК (С16:0) и олеиновой ЖК (С18:1; с9) также имели тенденцию к снижению при 2-й стадии КРР (*p*<0,06 и *p*<0,09, соответственно).

Таким образом, у пациентов со 2-й стадией КРР в отличие от 1-й, наметившиеся тенденции в уровнях ЖК приобрели характер достоверных различий, расширился перечень ЖК, которые дифференцировали КРР от здоровых обследуемых.

У пациентов с 3-й стадией КРР продолжали оставаться высокими уровни ПНЖК в мембранах эритроцитов в сравнении со здоровыми обследуемыми (С20:2 (*p*<0,02), С20:3 (*p*<0,01), С20:4 (*p*<0,001), С22:4 (*p*<0,01), С22:5 (*p*<0,001), С22:6 (*p*<0,001), суммы всех ННЖК (*p*<0,001), ПНЖК (*p*<0,001), омега-3 ЖК (*p*<0,001), омега-3 ЖК (ЕРА+ДНА) (*p*<0,001), омега-6 ЖК (*p*<0,02). Уровень арахидиновой кислоты С20:0 (в отличие от 2-й стадии) не различался.

Из насыщенных и мононенасыщенных ЖК достоверно ниже при 3-й стадии заболевания в отличие от группы сравнения оказались уровни С14:0 (миристиновой) (*p*<0,02), пальмитиновой (С16:0)

Таблица 1.

Содержание жирных кислот в мембранах эритроцитов у больных с колоректальным раком различных стадий и в группе сравнения (M±SD).

Жирные кислоты	Содержание ЖК в группах, (%)					p =							
	1-я гр. сравнения, n=24	2-я гр. КРР Iст., n=7	3-я гр. КРР II ст., n=38	4-я гр. КРР IIIст., n=37	5-я гр. КРР IV ст., n=18	p1-p2	p1-p3	p1-p4	p1-p5	p2-p3	p3-p4	p4-p5	
C12:0 Додекановая (Лауриновая)	1,19±0,65	1,02±0,49	1,04±0,55	0,78±0,45	0,89±1,15	0,26	0,21	0,07	0,19	0,48	0,002	0,35	
C14:0 Тетрадекановая (Миристиновая)	1,55±0,96	1,48±0,72	0,99±0,48	0,87±0,56	1,13±1,05	0,42	0,02	0,02	0,12	0,08	0,18	0,19	
C15:0 Пентадекановая (Пентадециловая)	0,64±0,45	0,65±0,38	0,39±0,22	0,39±0,25	0,46±0,45	0,49	0,02	0,06	0,14	0,08	0,48	0,28	
C16:0 Гексадекановая (Пальмитиновая)	29,94±3,57	28,38±3,09	28,20±4,13	24,75±5,30	25,87±6,48	0,16	0,06	0,001	0,02	0,45	0,001	0,28	
C16:1;7 Цис-7-гексадекановая (7-Пальмитоолеиновая)	1,47±1,25	1,51±0,85	0,76±0,54	0,85±0,53	1,11±0,95	0,46	0,02	0,06	0,18	0,04	0,24	0,17	
C16:1;9 Цис-9-гексадекановая (Пальмитолеиновая)	2,49±1,39	1,98±1,04	1,81±0,84	1,69±0,71	1,14±0,85	0,18	0,04	0,04	0,001	0,36	0,26	0,02	
C17:0 Гептадекановая (Маргаритиновая)	0,38±0,12	0,34±0,17	0,30±0,13	0,30±0,15	0,26±0,13	0,29	0,01	0,18	0,01	0,31	0,49	0,19	
C16:2;9,12 Гексадекадиеновая	0,13±0,14	0,22±0,25	0,17±0,19	0,19±0,16	0,15±0,13	0,22	0,21	0,34	0,33	0,33	0,37	0,22	
C18:0 Октадекановая (Стеариновая)	13,59±1,56	14,23±1,89	14,02±2,09	13,96±1,97	14,16±1,91	0,24	0,21	0,15	0,18	0,41	0,46	0,37	
C18:1; с9 Цис-9-октадекановая (Олеиновая)	15,29±1,85	14,33±2,87	14,47±2,22	15,16±2,47	14,12±1,66	0,24	0,09	0,10	0,03	0,46	0,12	0,05	
C18:1; t9 Транс-9-октадекановая (Элаидиновая)	1,41±0,50	1,52±0,69	1,10±0,73	1,07±0,63	0,87±0,45	0,36	0,04	0,11	0,001	0,11	0,41	0,11	
C18:2;9,12 Октадекадиеновая (Линолевая)	14,08±2,39	12,92±3,49	12,41±1,75	13,04±3,84	12,35±1,68	0,24	0,01	0,13	0,01	0,37	0,19	0,19	
C20:0 Эйкозановая (Арахидиновая)	0,06±0,04	0,11±0,07	0,12±0,15	0,15±0,18	0,13±0,12	0,07	0,01	0,14	0,03	0,38	0,25	0,29	
C18:3;6,9,12 Октадекатриеновая (α-Линоленовая)	0,18±0,19	0,44±0,37	0,26±0,29	0,35±0,34	0,31±0,24	0,08	0,13	0,17	0,05	0,15	0,13	0,33	
C20:2;11,14 (Докодиеновая)	0,19±0,10	0,32±0,21	0,27±0,14	0,39±0,28	0,43±0,26	0,10	0,02	0,02	0,001	0,29	0,02	0,29	
C20:3;8, 11,14 (Дигомо-γ-линоленовая)	0,95±0,28	1,00±0,25	1,36±0,56	1,34±0,53	1,34±0,64	0,34	0,001	0,01	0,02	0,01	0,44	0,49	
C20:4;5,8,11,14 Эйкозатетраеновая (Арахидиновая)	10,77±2,20	11,83±1,49	13,81±2,69	14,59±3,58	14,84±4,43	0,10	0,001	0,001	0,001	0,01	0,16	0,42	
C20:5;5,8,11,14,17 Эйкозапентаеновая	0,64±0,68	0,76±0,48	0,61±0,48	0,94±0,56	0,90±0,43	0,32	0,42	0,12	0,10	0,25	0,01	0,39	
C22:4;7,10,13,16 Докозатетраеновая	1,77±0,71	2,18±0,81	2,67±1,24	2,74±1,19	3,34±1,97	0,15	0,001	0,01	0,001	0,13	0,41	0,14	
C22:5;7,10,13,16,19 Докозапентаеновая (Клупандоновая)	1,15±0,46	1,46±0,34	1,62±0,65	2,03±0,98	2,17±1,23	0,05	0,001	0,001	0,001	0,19	0,02	0,35	
C22:6;4,7,10,13,16,19 Докозагексаеновая	2,13±1,00	3,30±1,41	3,64±1,47	4,43±2,01	4,02±2,00	0,05	0,001	0,001	0,001	0,31	0,04	0,26	
насыщенные	47,35±3,96	46,21±2,50	45,06±3,91	41,21±5,60	42,92±8,14	0,21	0,03	0,001	0,03	0,19	0,001	0,23	
ненасыщенные	52,66±3,96	53,79±2,50	54,94±3,91	58,79±5,60	57,08±8,14	0,21	0,03	0,001	0,03	0,19	0,001	0,23	
мононенасыщенные	20,66±3,05	19,35±4,37	18,14±3,02	18,76±3,21	17,23±2,57	0,26	0,001	0,23	0,001	0,27	0,21	0,04	
полиненасыщенные	32,00±5,10	34,44±3,95	36,80±5,73	40,03±7,10	39,89±9,79	0,13	0,001	0,001	0,01	0,12	0,02	0,48	
омега-3	4,10±1,76	5,96±2,40	5,75±2,71	7,75±3,32	7,39±3,48	0,06	0,01	0,001	0,001	0,436	0,001	0,37	
омега-6	27,77±4,44	28,25±3,55	28,66±8,38	32,09±4,89	32,31±6,86	0,40	0,31	0,02	0,02	0,42	0,02	0,46	
омега-3(EPA+DHA)	2,77±1,47	4,07±1,79	4,25±1,68	5,37±2,33	4,92±2,16	0,07	0,001	0,001	0,001	0,41	0,01	0,26	
омега-6/омега-3	7,89±2,96	5,64±3,23	5,67±2,11	5,13±3,28	5,08±2,00	0,09	0,001	0,01	0,001	0,49	0,21	0,48	
насыщ./ненасыщ.	0,91±0,14	0,86±0,09	0,83±0,13	0,72±0,17	0,79±0,26	0,18	0,03	0,001	0,06	0,23	0,001	0,18	
насыщ./полиненасыщ.	1,53±0,33	1,36±0,20	1,27±0,31	1,09±0,36	1,19±0,52	0,08	0,01	0,001	0,02	0,19	0,02	0,24	

($p < 0,001$) и С16:1;9- цис-9-гексадекановой (пальмитоолеиновой) ($p < 0,04$), как и общее содержание НЖК (0,001), соотношения омега-6/омега-3 ЖК ($p < 0,01$), НЖК / ННЖК ($p < 0,001$), НЖК / ПНЖК ($p < 0,001$).

Ряд НЖК и МНЖК, которые достоверно различались при 2-й стадии КРР, выявили лишь тенденцию к снижению при 3-й стадии: С15:0 пентадекановая ($p < 0,06$), С16:1;7 – цис-7-гексадекановая (пальмитоолеиновая) ($p < 0,06$), кроме того возникла ассоциация с еще одной НЖК – С12:0 додекановой (лауриновой) ($p < 0,07$).

Таким образом, при 3-й стадии КРР сохранялся высокий уровень ПНЖК в мембранах эритроцитов и сниженный -НЖК и МНЖК. Ряд НЖК и МНЖК (в отличие от 2-й группы с достоверными различиями) проявлял лишь тенденции к снижению. Уровень арахидиновой ЖК достоверно не различался. Напротив, на 3-й стадии КРР обнаружилось высокодостоверное снижение уровня пальмитиновой ЖК в мембранах эритроцитов (в отличие от контрольной группы). Дифференцирующими между пациентами с КРР с 3 стадией и здоровыми оказались ПНЖК, в отношении НЖК и МНЖК, в отличие от ранних стадий, менялся перечень ЖК и степень достоверности различий.

4-я стадия КРР ассоциирована с высоко достоверным повышением содержания практически всех исследованных ПНЖК в мембранах эритроцитов, причем к перечню этих ЖК, совпадающих с 3-й стадией КРР (С20:2 ($p < 0,001$), С20:3 ($p < 0,02$), С20:4 ($p < 0,001$), С22:4 ($p < 0,01$), С22:5 ($p < 0,001$), С22:6 ($p < 0,001$), суммы всех ННЖК ($p < 0,03$), ПНЖК ($p < 0,01$), омега-3 ($p < 0,001$), омега-3 (ЕРА+DНА) ($p < 0,001$), омега-6 ($p < 0,02$) следует добавить достоверное повышение уровня еще одной ПНЖК С18:3;6,9,12 октадекатриеновой (γ -линоленовой) ЖК ($p < 0,05$) и НЖК С20:0 (эйкозановой, арахидиновой) ($p < 0,03$).

Следует отметить расширение перечня НЖК и МНЖК, дифференцирующих пациентов 4-й стадии КРР от здоровых. Кроме тех жирных кислот, содержание которых было достоверно снижено при 3-й стадии заболевания – пальмитиновой (С16:0) ($p < 0,02$) и С16:1;9- цис-9-гексадекановой (пальмитоолеиновой) ($p < 0,001$), общего содержания НЖК (0,03), соотношения омега-6/омега-3 ($p < 0,001$), НЖК / ННЖК ($p < 0,06$), НЖК / ПНЖК ($p < 0,02$) – выявлено достоверное снижение и других ЖК. Это С17:0 гептадекановая (маргариновая) ЖК ($p < 0,01$), С18:1; с9 цис-9-октадекановая (олеиновая) ($p < 0,03$), С18:1; t9 транс-9-октадекановая (элаидиновая) ($p < 0,001$). Оказалось сниженным и общее содержание МНЖК в мембранах эритроцитов пациентов с 4-й стадией КРР ($p < 0,001$). Стоит обратить внимание и на тот факт, что именно на терминальной стадии КРР выявлено достоверное снижение уровня одной из ННЖК – С18:2;9,12 октадекадиеновой (линолевой) ($p < 0,01$).

Таким образом, на 4-й стадии КРР выявлено увеличение перечня ПНЖК, уровень которых нарастал при КРР, НЖК и МНЖК, содержание которых снижалось в мембранах эритроцитов пациентов с КРР. Вместе с тем, отмечены две жирные кислоты, уровень которых изменялся инверсно по

сравнению с общим трендом для данной группы. Это НЖК – арахидиновая С20:0, уровень которой нарастал в отличие от снижения содержания других НЖК и ПНЖК – линолевая С18:2, содержание которой снижалось в отличие от других ННЖК.

При анализе различий уровней жирных кислот в зависимости от стадии заболевания оказалось, что вторая стадия отличалась от первой достоверным увеличением уровня двух омега-6 ПНЖК – С20:3;8, 11,14 (дигомо- γ -линоленовой) и С20:4;5,8,11,14 (арахидиновой) ($p < 0,01$) и снижением пальмитоолеиновой (С16:1;7 цис-7-гексадекановой) ($p < 0,04$). Отмечена также тенденция к снижению двух НЖК – С14:0 тетрадекановой (миристиновой) и С15:0 пентадекановой ($p < 0,08$).

Третью стадию дифференцировали от второй повышенные уровни омега-3 ПНЖК с большей степенью ненасыщенности, чем при 1-й – 2-й стадиях КРР ($n=5-6$): С20:5 (эйкозапентаеновая) ($p < 0,01$), С22:5 (докозапентаеновая) ($p < 0,02$), С22:6 (докозагексаеновая) ($p < 0,04$), а также омега-6 – С20:2 (эйкозадиеновая) ($p < 0,02$). Достоверно выше при 3-й стадии, чем при второй, оказались: сумма всех ННЖК ($p < 0,001$), ПНЖК ($p < 0,02$), омега-3 ($p < 0,001$), омега-3 (ЕРА+DНА) ($p < 0,01$), омега-6 ЖК ($p < 0,02$). С другой стороны, достоверно ниже, чем при второй стадии, у пациентов третьей стадии оказались уровни НЖК – С12:0 додекановой (лауриновой) ($p < 0,02$), С16:0 гексадекановой (пальмитиновой) ($p < 0,001$), суммы всех НЖК ($p < 0,001$), а также индексов: НЖК / ННЖК ($p < 0,001$), НЖК / ПНЖК ($p < 0,02$).

Различия между 2-й и 3-й стадиями весьма важны, поскольку это связано с метастазированием опухоли. Обширный перечень отличающихся жирных кислот, вероятно, связан с качественным и количественным изменением метаболических путей.

Интересно, что различия между третьей и четвертой стадиями, ассоциированной с появлением отдаленных метастазов, касались лишь сниженного уровня МНЖК при 4-й стадии в отличие от 3-й: С16:1;9 цис-9-гексадекановой (пальмитоолеиновой) ($p < 0,02$), С18:1; с9 цис-9-октадекановой (олеиновой) ($p < 0,05$), а также суммы мононенасыщенных ЖК ($p < 0,04$).

При проведении компонентного (РСА-анализа) уровней жирных кислот в мембранах эритроцитов выявлено, что наибольшее дифференцирование между пациентами с КРР и группой сравнения идет по соотношению НЖК / ННЖК (с более высоким содержанием ненасыщенных ЖК у пациентов с КРР). На рисунке 1 видно, что перечень ЖК, ассоциированных с группой контроля, имеет определенную очерченную область, в то время как метаболиты пациентов с КРР (общая группа) более широко распределены (что, очевидно, связано с неоднородностью пациентов в связи с различными стадиями заболевания, отличающимися по значимым жирным кислотам). Дифференцирующими ЖК между пациентами с КРР (общая группа) и группой здоровых лиц в мембранах эритроцитов оказались С20:0, 20:2, 20:3, 20:4, 22:4, 22:5, 22:6, уровни которых были выше, и С12–17:0, 16:1, 18:1, 18:2, содержание которых оказалось ниже у пациентов с КРР, чем у здоровых обследуемых (рисунок 1а).

Для дифференциации 1–2-й стадий КРР от здоровых наиболее значимыми были уровни С20:0, 20:2, 20:4, 20:3, 20:4, 22:6, 22:5, 22:6, достоверно большие при КРР, и С14–15:0, 17:0, 16:1, 18:1, 18:2, уровни которых оказались выше у здоровых лиц (рисунок 16). Пациенты с 3-й стадией КРР отличались от контроля достоверно более высокими уровнями С20:2,

20:3, 20:4, 22:4, 22:5, 22:6 и более низкими С14:0, 16:0, 16:1 (рисунок 1в). В терминальной стадии наиболее значимые различия касались содержания С18:3, 20:0, 20:2, 20:3, 20:4, 22:4, 22:5, 22:6 (оно было выше при КРР) и С16:0, 17:0, 16:1, 18:1, 18:2, уровни которых были ниже у пациентов с КРР, чем у здоровых лиц (рисунок 1г).

Обсуждение

В настоящем исследовании выявлены существенные различия в составе жирных кислот мембран эритроцитов, ассоциированные со стадией заболевания.

1-я стадия КРР оказалась отличной от здоровых лиц достоверно повышенными уровнями двух омега-3 ПНЖК – С22:5 (докозапентаеновой) и С22:6 (докозагексаеновой). На второй стадии к повышению уровней вышеописанных омега-3 ЖК присоединилось повышение уровней ряда омега-6 ПНЖК (С20:2, С20:3, С20:4, С22:4), но степень этого повышения была ниже, чем омега-3 (соотношение омега-6/омега-3 снизилось). Подобная ситуация сохранялась в более продвинутых стадиях КРР с нарастанием степени достоверности различий. Стоит отметить, что только у пациентов 4-й стадии КРР выявилось повышение еще одной омега-6 ПНЖК – С18:3 (γ-линоленовой) и снижение уровня С18:2 (линолевой). Со второй стадии заболевания стали выявляться достоверные снижения уровней насыщенных и мононенасыщенных ЖК; максимальная степень различий со здоровыми отмечена в продвинутых стадиях. Лишь одна насыщенная ЖК С20:0 (арахиновая) продемонстрировала достоверное нарастание уровня по мере прогрессирования КРР.

Эти данные расходятся с результатами целого ряда исследований, в которых омега-3 жирные кислоты ассоциированы с защитными действиями против рака толстой кишки, в то время как омега-6 имеют противоположный эффект [16, 17]. Показано, что омега-3 ПНЖК могут уменьшать рост и дифференцировку раковых клеток путем подавления арахидоновой кислоты и снижения биосинтеза эйкозаноидов [18, 19]. Они также ингибируют канцерогенез толстой кишки путем уменьшения экспрессии циклооксигеназы-2 (COX-2) и p21 RAS, тогда как для омега-6 ПНЖК продемонстрирован противоположный эффект [20, 21]. По данным Rifkin S. B. et al. (2017) рыба, богатая эйкозапентаеновой (ЕРА; 20:5n-3) и докозагексаеновой (ДНА; 22:6n-3) жирными кислотами снижает риск КРР [10]. ЕРА и ДНА, как из рыбы, так и метаболизированные из альфа-линоленовой кислоты (18:3n-3) растительных масел, превращаются в n-3 ПНЖК-производные эйкозаноиды [22]. Следовательно, омега-3 ПНЖК, особенно n-3 высоко ненасыщенные жирные кислоты (HUFAs = ЕРА + докозапентаеновая кислота + ДНА), считаются конкурирующими с n-6 ПНЖК за включение в состав фосфолипидов клеточных мембран и замену ПНЖК компонентов в мембранах [23]. Было показано, высокий уровень n-3 ПНЖК в ткани снижает риск развития колоректальной аденомы [24].

В исследованиях с использованием очищенных этиловых эфиров линолевой, стеариновой кислоты и эйкозапентаеновой кислоты Okuno M. et al. установили, что линолевая кислота усиливает канцерогенез толстой кишки, тогда как эйкозапентаеновая кислота оказывает протективное действие на канцерогенез толстой кишки, вызванный азоксиметаном [12]. Однако, авторами было отмечено, что более высокое общее потребление жиров в западных странах может привести к ослаблению воздействия длинноцепочечных n-3 ПНЖК до обнаруживаемых уровней.

В последние годы понимание роли омега-3 и омега-6 ПНЖК в развитии КРР во многом подвергается пересмотру. Это следствие целого ряда исследований, данные которых весьма противоречивы. Противоречивая и неоднозначная роль омега-3 и омега-6 ПНЖК в развитии КРР может быть обусловлена их различными уровнями в составе мембранных фосфолипидов. Так, при низкой концентрации n-6 ПНЖК, являясь компонентами мембранных фосфолипидов клеток иммунной системы, проявляют себя как защитный фактор, однако, при высокой концентрации омега-6 их производные эйкозаноиды, такие как PGE2, могут быть иммуносупрессорами.

Исследования показали, что омега-3 ПНЖК в мембране могут конкурировать с омега-6 ПНЖК в качестве субстратов ферментов циклооксигеназы и липоксигеназы. Они также могут уменьшить продукцию производных омега-6 эйкозаноидов, таких как PGE2, которая требуется для нормальной функции Т-клеток, однако при высокой концентрации омега-3 их эффект будет иммуносупрессивным [11].

Кроме того, при низкой концентрации омега-3 ПНЖК могут связываться с PPAR-γ для регулирования образования IL-8, iNOS и MMP-1, что ингибирует пролиферацию клеток; они также могут увеличить ROS для увеличения апоптоза опухолевых клеток [10].

При высокой концентрации омега-3 ПНЖК могут встраиваться в мембранные фосфолипиды, изменяя их текучесть, в результате чего происходит ингибирование пролиферации Т-клеток. Липидные композиции имеют решающее значение для активации Т-клеток, поскольку являются барьером для протеин-протеиновых взаимодействий, которые принимают участие в формировании иммунологического синапса – высокоорганизованной структуры на участке контакта Т-клеток с антиген-представляющей клеткой.

Высокие уровни омега-3 ПНЖК нарушают липидные «плоты» с последующим изменением белковой композиции липидного слоя внутренней

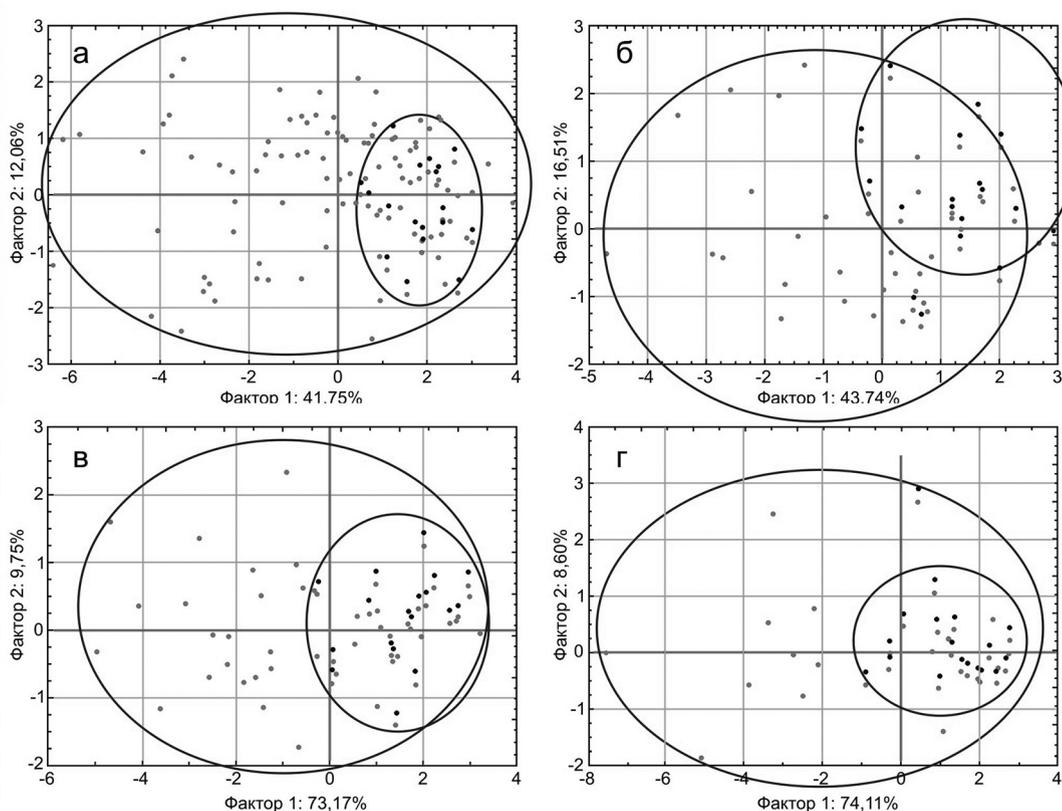


Рисунок 1.
 РСА-анализ дифференцирования жирных кислот в мембранах эритроцитов у пациентов с КРР и лиц группы сравнения:
 а) общая группа пациентов с КРР и группа сравнения;
 б) пациенты с КРР 1–2 стадии и группа сравнения;
 в) пациенты с КРР 3 стадии и группа сравнения;
 г) пациенты с КРР 4 стадии и группа сравнения.
 Черные звездочки в малом круге – дифференцирующие жирные кислоты, ассоциированные с группой сравнения; красные точки, очерченные в большой круг, таковые ЖК с группой пациентов с КРР.

части мембраны и ингибирует реакции Т-клеток. Кроме того, ROS, которые являются клеточными последствиями окислительного стресса, могут вызвать окисление ДНК, что приводит к повреждению всех четырех оснований в молекуле дезоксирибозы, вызывая появление генетических мутаций и иницирование колоректального канцерогенеза [25].

В настоящем исследовании доля линолевой кислоты (18:2n-6) у пациентов с раком значительно снижалась во фракциях фосфолипидов эритроцитов у пациентов с терминальной стадией заболевания по сравнению с контрольной группой, что может быть связано со снижением потребления ее с пищей или увеличение метаболизма данной кислоты. Линолевая кислота приобретает ненасыщенность и удлиняется до арахидоновой кислоты (20:4n-6) и затем превращается в n-6 полиненасыщенные жирные кислоты и их производные – эйкозаноиды. Это определяет избыточный расход γ -линолевой кислоты (максимально выраженный в продвинутых стадиях КРР) с нарастанием уровня арахидоновой кислоты в мембранах эритроцитов. Такие эйкозаноиды как простагландин E2, тромбосан А2, лейкотриен В4 и простагландин обычно связывают с воспалением, канцерогенезом, ангиогенезом, клеточной пролиферацией и ингибированием апоптоза [26, 27]. Предполагается, что каскад арахидоновой кислоты играет ключевую роль в развитии колоректального рака. СОХ-2, ключевой провоспалительный фермент, является ответственным за образование простагландинов из арахидоновой кислоты и способствует прогрессированию КРР [28]. Более того, известно, что СОХ-2 чрезмерно экспрессирован в большей части случаев КРР и воспалительных заболеваний

кишечника. Уровни арахидоновой кислоты, как сообщалось ранее, были увеличены в ткани толстой кишки при КРР по сравнению с нормальной слизистой [7].

Varó L. et al. [29] было показано, что сниженные уровни линолевой кислоты в мембранах эритроцитов у пациентов с колоректальным раком могут повышать активность ферментативной системы – дезацетилазы-6 ЖК в печени, приводя к значительному повышению уровня арахидоновой кислоты, что согласуется с результатами настоящего исследования.

Весьма интересен факт, выявленный в настоящем исследовании, наличия прогрессирующего снижения уровня НЖК, МНЖК и прогрессирующее увеличение ПНЖК, ассоциированных со стадией заболевания. С одной стороны, данные изменения, вероятно, являются отражением нарастающей нестабильности клеточных мембран, которая определяется уровнем насыщенности жирных кислот. Возможно, в процессе канцерогенеза происходит перепрограммирование энергетического метаболизма, в ходе чего снижение уровня насыщенных ЖК как структурных компонентов мембран оказывается связанным с их повышенным расходом в качестве энергетического топлива в процессе бета-окисления в митохондриях. Поскольку насыщенные ЖК не требуют создания двойной связи в процессе окисления, это позволяет обеспечить ускоренное производство энергии, что необходимо опухолевым клеткам для роста, метастазирования. Напротив, роль ПНЖК как факторов промощения опухолевого роста существенно возрастает. Подтверждением подобной точки зрения следует считать исследования Zhang P. et al. [11],

которые показали изменение роли ПНЖК – омега-6 и омега-3 по мере прогрессирования КРР, как и работы Li F. et al. [30], продемонстрировавшие повышение уровня ряда ПНЖК у пациентов

с продвинутыми стадиями КРР по сравнению с ранними и снижение содержания НЖК. Авторы предположили вероятную инверсию функций ПНЖК в процессе канцерогенеза.

Заключение

В результате проведенного исследования выявлены достоверные различия в уровнях жирных кислот в фосфолипидах мембран эритроцитов у пациентов с колоректальным раком и здоровых лиц, ассоциированные со стадией заболевания: установлено нарастание ПНЖК, преимущественно за счет омега-3, и снижение уровня

НЖК и МНЖК. Выявленные сдвиги, очевидно, связаны с изменением метаболизма жирных кислот в процессе канцерогенеза, поэтому, необходимы дальнейшие исследования для выяснения значимости различий ЖК в их отдельных фракциях и предполагаемой роли в прогрессировании заболевания.

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, Пер. № АААА-А17-117112850280-2.

Литература | Reference

- Kolligs F. T. Diagnostics and epidemiology of colorectal cancer. *Visceral Med.*, 2016, vol. 32, pp. 158–164.
- Grundmann E. What's new in colon carcinogenesis? *Pathol. Res. Pract.*, 1985, vol. 179, pp. 429–432.
- Yang L., Pei Z. Bacteria, inflammation, and colon cancer. *World J. Gastroenterol.*, 2006, vol. 12, pp. 6741–6746.
- Yan G., Li L., Zhu B., Li Y. Lipidome in colorectal cancer. *Oncotarget*, 2016, vol. 7, pp. 33429–39.
- Mehdizadeh A., Bonyadi M., Darabi M. et al. Common chemotherapeutic agents modulate fatty acid distribution in human hepatocellular carcinoma and colorectal cancer cells. *Bioimpacts*, 2017, vol. 7, pp. 31–9.
- Escrich E., Solanas M., Moral R., Costa I. et al. Are the olive oil and other dietary lipids related to cancer? *Experimental evidence. ClinTranslOncol.*, 2006, vol. 8, pp. 868–883.
- Abel S., Riedel S., Gelderblom W. C. Dietary PUFA and cancer. *Proc.Nutr. Soc.*, 2014, vol. 73, pp. 361–367.
- Kopke S., Buhrke T., Lampen A. miRNA expression in human intestinal Caco-2 cells is comparably regulated by cis- and trans-fatty acids. *Lipids*, 2015, vol. 50, pp. 227–239.
- Pellatt A. J., Slattery M. L., Mullany L. E. et al. Dietary intake alters gene expression in colon tissue: possible underlying mechanism for the influence of diet on disease. *Pharmacogenet Genomics*, 2016, vol. 26, pp. 294–306.
- Rifkin S. B., Shrubsole M. J., Cai Q., Smalley W. E. et al. PUFA levels in erythrocyte membrane phospholipids are differentially associated with colorectal adenoma risk. *The British J. Nutrition*, 2017, vol. 117, no. 11, pp. 1615–1622.
- 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.
- 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.
- Arab L., Akbar J. Biomarkers and the measurement of fatty acids. *Public Health Nutr.*, 2002, vol. 5, pp. 865–871.
- Shashkov M. V., Sidelnikov V. N. Properties of columns with several pyridinium and imidazolium ionic liquid stationary phases. *Journal of chromatography A.*, 2013, vol. 1309, pp. 56–63.
- Kang J. X., Wang J. A simplified method for analysis of polyunsaturated fatty acids. *BMC biochemistry*, 2005, vol. 6, pp. 5–13.
- Habermann N., Schon A., Lund E. K., Gleit M. Fish fatty acids alter markers of apoptosis in colorectal adenoma and adenocarcinoma cell lines but fish consumption has no impact on apoptosis-induction ex vivo. *Apoptosis: An International Journal on Programmed Cell Death*, 2010, vol. 15, no. 5, pp. 621–630.
- Lee J. Y., Sim T. B., Lee J. E., Na H. K. Chemopreventive and Chemotherapeutic Effects of Fish Oil derived Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Colon Carcinogenesis. *Clinical Nutrition Research*, 2017, vol. 6, no. 3, pp. 147–160.
- Dupertuis Y. M., Meguid M. M., Pichard C. Colon cancer therapy: new perspectives of nutritional manipulations using polyunsaturated fatty acids. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 2007, vol. 10, no. 4, pp. 427–432.
- Vasudevan A., Yu Y., Banerjee S., Woods J. et al. Omega-3 fatty acid is a potential preventive agent for recurrent colon cancer. *Cancer Prevention Research*, 2014, vol. 7, no. 11, pp. 1138–1148.
- Lim K., Han C., Dai Y., Shen M. et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids inhibit hepatocellular carcinoma cell growth through blocking beta-catenin and cyclooxygenase-2. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2009, vol. 8, no. 11, pp. 3046–3055.
- Ma C. J., Wu J. M., Tsai H. L., Huang C. W. et al. Prospective double-blind randomized study on the efficacy and safety of an n-3 fatty acid enriched intravenous fat emulsion in postsurgical gastric and colorectal cancer patients. *Nutrition Journal*, 2015, vol. 14, pp. 9–14.
- Fazio C., Piazzini G., Vitagliano P., Fogliano V. et al. Inflammation increases NOTCH1 activity via MMP9 and is counteracted by Eicosapentaenoic Acid-free fatty acid in colon cancer cells. *Scientific Reports*, 2016, vol. 6, pp. 20670–20679.

23. Kato I., Vasquez A., Moyerbrailean G., Land S. et al. Nutritional Correlates of Human Oral Microbiome. *Journal of the American College of Nutrition*, 2017, vol. 36, no. 2, pp. 88–98.
24. Kim J., Oh S. W., Kim Y. S., Kwon H. et al. Association between dietary fat intake and colorectal adenoma in korean adults: A cross-sectional study. *Medicine*, 2017, vol. 96, no. 1, pp. e5759-e5766.
25. Ohmori H., Fujii K., Kadochi Y., Mori S. et al. Elaidic Acid, a Trans-Fatty Acid, Enhances the Metastasis of Colorectal Cancer Cells. *Pathobiology: Journal of Immunopathology, Molecular and Cellular Biology*, 2017, vol. 84, no. 3, pp. 144–151.
26. May-Wilson S., Sud A., Law P. J., Palin K. et al. Pro-inflammatory fatty acid profile and colorectal cancer risk: A Mendelian randomisation analysis. *European Journal of Cancer*, 2017, vol. 84, pp. 228–238.
27. Michalak A., Mosinska P., Fichna J. Polyunsaturated Fatty Acids and Their Derivatives: Therapeutic Value for Inflammatory, Functional Gastrointestinal Disorders, and Colorectal Cancer. *Frontiers in Pharmacology*, 2016, vol. 7, pp. 459–467.
28. Tae C. H., Kim S. E., Jung S. A., Joo Y. H. et al. Involvement of adiponectin in early stage of colorectal carcinogenesis. *BMC cancer*, 2014, vol. 14, pp. 811–819.
29. 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.
30. 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.