

МАРКЕРИ ТА РЕГУЛЯТОРНІ МЕХАНІЗМИ ЗА РАКУ ЯЄЧНИКІВ

С. Я. ПАРИЖАК, О. І. ЯКУБЕЦЬ, З. Д. ВОРОБЕЦЬ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: vorobets@meduniv.lviv.ua

Рак яєчників є одним із поширених злоякісних захворювань жіночої репродуктивної системи, яке частіше за інших закінчується летальністю. За останні 20 років рівень захворюваності раком яєчників в Україні та більшості країн світу залишається стабільно високим без явної тенденції до зниження. Це визначає інтерес вчених до пошуку нових методів ранньої діагностики, лікувальної тактики, прогностичних критеріїв, зокрема біохімічних, і способів профілактики цієї патології. Дотепер не існує специфічних діагностичних тестів, які б дозволили виявляти пухлину на ранніх етапах її розвитку. Незважаючи на великий арсенал пухлинних маркерів, єдиним більш-менш надійним тестом за раку яєчників є визначення антигену СА-125. В огляді висвітлено результати основних сучасних досліджень, спрямованих на з'ясування регуляторних механізмів, пов'язаних із метаболізмом L-аргініну та активністю АТР-гідролазних систем, пошук нових маркерів раку яєчників, визначено основні ймовірні претенденти на цю роль.

Ключові слова: рак яєчників, пухлинні маркери, регуляторні механізми, метаболізм L-аргініну, активність АТР-гідролаз, антиген СА-125.

Рак яєчників є найфатальнішою формою злоякісних новоутворень жіночих статевих органів. Займає сьоме місце в структурі захворюваності і четверте – серед причин смертності від усіх злоякісних пухлин у жінок (після раку молочної залози, тіла і шийки матки) [1–3].

Дані світової статистики свідчать про те, що за останнє десятиліття показники захворюваності на рак яєчників в різних країнах світу, в тому числі і в Україні, не виявляють тенденції до зниження, а, навпаки, зростають. За даними Міжнародного агентства з вивчення раку (IARC) щороку в світі реєструється більше ніж 225 тис. нових випадків раку яєчників, від якого вмирає більше 140 тис. жінок [4]. У 2010 році захворюваність на рак яєчників в Україні за даними Національного канцер-реєстру України складала 15,1%, а смертність – 8,7 випадків на 100 тис. жіночого населення, в 2011 році – 16,6 та 9,6 відповідно [5].

Показники смертності від раку яєчників, у тому числі протягом першого року після встановлення діагнозу, є також високими. За даними популяційних канцер-реєстрів країн Європи, виживання хворих протягом одного року становить 63%; трьох років – 41%; п'яти років – 35%

[6]. Щороку від раку яєчників помирає більше жінок, ніж від раку шийки матки та ендометрію разом [7].

Рак яєчників називають «тихим вбивцею», тому що клінічно в багатьох хворих перші прояви патологічного процесу пов'язані з поширенням пухлини за межі яєчника, а іноді і за межі малого таза. Майже 70% пацієнтів вперше звертаються із захворюванням, що вже досягло III або IV стадії [8]. Пік захворюваності на епітеліальні злоякісні пухлини яєчника припадає на вік, старший за 65 років. Так, за даними Disaia P. J., частота раку яєчників зростає від трьох випадків на 100 тис. жінок, молодших за 30 років, до 46 на 100 тис. жінок, старших за 60 років [3]. Таким чином, рак яєчників є проблемою і для молодих жінок.

Гормонозалежність раку яєчників

Рак яєчників належить до гормонозалежних пухлин. Загальний механізм розвитку злоякісних пухлин яєчників, за переконанням більшості фахівців, полягає у порушеннях гормонального балансу в системі «гіпофіз–яєчники» та розвитком естрогенної гіперстимуляції [9].

Гонадотропні гормони, естрогени і андрогени грають етіологічну роль, у той час як

гонадотропін-релізінг гормон і прогестерон можуть бути захисними факторами патогенезу раку яєчників. Стимуляція поверхневого епітелію яєчників фолікулостимулюючим і лютеїнізуючим гормонами (ФСГ і ЛГ) може підвищувати ризик його малігнізації. Експериментальні дослідження показали, що гормональні рецептори експресуються на поверхні клітин раку яєчників і опосередковують вплив гормонів на ці клітини [10, 11].

ФСГ, ЛГ і хоріонічний гонадотропін людини можуть стимулювати проліферацію клітин раку яєчників і активувати мітоген-протеїнкіназу. Індукована гіперекспресія рецептора до ФСГ веде до підвищення експресії рецепторів епідермального фактора росту (epidermal growth factor receptor – EGFR), рецептора типу 2 до людського епідермального фактора росту (human epidermal growth factor receptor 2 – HER2) [12]. До інших можливих онкогенів, експресія яких підвищується за дії ФСГ і ЛГ *in vitro*, належать β -катенін, Meis-1, циклін G2, інсуліноподібний фактор росту 1 і інтегрин β -1 [13].

Підвищення концентрації гонадотропінів у крові з віком поєднується зі збільшенням захворюваності на рак яєчників, а тривале застосування контрацептивних стероїдів, які знижують секрецію гонадотропінів, супроводжується зменшенням частоти захворювання у 2–3 рази [14].

Онкомаркери в діагностиці та прогнозуванні раку яєчників

Не дивлячись на удосконалення методів діагностики та лікування хворих на злоякісні епітеліальні пухлини яєчника, віддалені результати лікування все ще залишаються незадовільними. З одного боку, це може бути пов'язане з високою агресивністю раку яєчників, а з іншого – з резистентністю пухлин до протипухлинних препаратів, в зв'язку з чим у переважній більшості хворих спостерігається прогресування пухлинного процесу [15]. Вважається, що розвиток резистентності відбувається за рахунок індивідуальної генетично обумовленої резистентності, а також за рахунок появи популяції резистентних клітин під час проведення повторних курсів протипухлинної терапії.

Рання діагностика раку яєчників, точне встановлення стадії захворювання, які дозволяють вибрати адекватну програму комбінованого лікування, багато в чому визначають прогноз захворювання. Прихований перебіг захворювання обумовлює важливість ранньої діагностики раку яєчників, що є найактуальнішою проблемою біохімії та онкогінекології [16]. Вирішення її, на наш погляд, полягає в пошуку об'єктивних показників, які можуть бути використані під час диференційної та ранньої діагностики раку яєчників. Найуспішнішим напрямом в цьому плані є вивчення маркерів пухлинного процесу [17].

У наш час відомі 4 типи маркерів: плацентарні антигени, метаболічні маркери, онкофетальні антигени та антигени мембранних структур пухлинних клітин.

До плацентарних відносять хоріонічний гонадотропін (ХЧГ), плацентарний лактоген, трофобластичний β 1-глікопротеїн (ТБГ), які специфічні для трофобластичної хвороби і хоріокарциноми яєчників. Високі сироваткові концентрації β -субодиниці ХЧГ у невагітних жінок вказують на наявність трофобластичної пухлини, або хоріокарциноми яєчників у 98% випадків [18].

Рівні сироваткового гонадотропіну людини вірогідно відрізняються у хворих із доброякісними і злоякісними пухлинами яєчників. ХЧГ-позитивні сироватки було знайдено в 26,7% хворих із доброякісними і 67% хворих зі злоякісними пухлинами яєчників. Експресія ХЧГ у тканинах раку яєчників варіює залежно від рівня та стадії пухлинного процесу [19].

Плацентарний лактоген менш інформативний у разі злоякісних новоутворень яєчників, оскільки за раку виявляється у 72% хворих, а у разі дисгерміноми – в 57% випадків [20].

Метаболічні онкомаркери (термостабільна лужна фосфатаза, простагландини, γ -естераза) найінформативніші за раку ендометрія.

До онкофетальних антигенів належать раковомембріональний антиген (РЕА), або СЕА (Cancer Embryonic Antigen), і α -фетопротеїн (АФП), які є глікопротеїнами, виділеними із тканин плода. АФП – специфічний маркер для гепатоцелюлярного раку печінки і ембріональних

тератокарцином яєчників. Високі концентрації протеїну виявлено у 35% хворих раком шийки матки і в 62% хворих раком ендометрія. Однак низька специфічність протеїну не дозволяє використовувати його для первинного скринінгу онкологічних захворювань [21].

Найширше серед маркерів злоякісних пухлин яєчників представлені пухлиноасоційовані антигени СА-125, СА 15-3, СА 72-4, СА 19-9 [22]. Визначення СА-125 багатьма авторами визнається достатньо інформативним тестом виявлення злоякісних пухлин яєчників епітеліального походження [23, 24]. Верхня межа норми СА-125 не перевищує 35 од./мл, пограничні значення – 30–40 од./мл.

Підвищений рівень СА-125 у пацієток із різними пухлинами яєчника спостерігається в 40–95% випадків залежно від стадії захворювання і гістологічного типу пухлини. За доброякісних пухлин яєчників збільшення рівня цього маркера відбувається лише у 8% випадків. Значне зростання концентрації СА-125 у плазмі корелює з діаметром пухлини, >70% пацієнтів з діаметром пухлин 1–2 см мають підвищений рівень її [25].

Доведено, що існує позитивна кореляція між клінічною стадією раку яєчників і рівнем СА-125. Підвищений рівень протеїну частіше спостерігається за III–IV стадії захворювання (>90%), ніж за I–II (лише 50%) [26]. У той самий час, М. Н. Африкян і К. І. Жорданія встановили зниження рівня СА-125 у хворих в термінальній стадії раку яєчників, пояснюючи цей феномен надлишковою секрецією протеїну в асцитичну рідину [27]. За раку яєчників було встановлено, що чим нижче рівень СА-125 після завершення первинного лікування, тим довший очікуваний безрецидивний період [28].

Найуспішніше тести на рівень СА-125 у сироватці крові пацієток із карциномою яєчників використовуються для оцінки ефективності хіміотерапії після оперативного втручання і за спостереження хворих із метою раннього виявлення рецидивів. Можливості використання цього тесту у разі раннього виявлення захворювання, диференціальної діагностики, прогнозування перебігу хвороби вкрай обмежені і вимагають подальшого детальнішого обґрунтування [25]. Метод однократного визначення рівня СА-125 в сироватці крові пацієток не виявляє ні достатню чутливість, ні специфічність, щоб бути

використаним у клінічній і диференціальній діагностиці. Одиничні вимірювання не дозволяють встановити різницю між ранніми стадіями (I і II) раку яєчників і доброякісними пухлинами. Це пояснюється значним перекриванням рівнів СА-125 в області низьких значень у здорових жінок і у хворих з новоутвореннями яєчників [29].

Рівень СА-125 може підвищуватись і у разі деяких негінекологічних злоякісних новоутворень різної локалізації [30, 31]. Повідомляється, що сироватковий рівень СА-125, який перевищує дискримінаційний, виявляється у 15% хворих на рак шлунка, у 16,6% на рак товстої кишки, у 16,7% на рак легенів, у 16,6% на рак молочної залози, у 26,3% на рак підшлункової залози [30, 32]. А. Webb зі співавторами показав, що за поширеного раку шлунка підвищений рівень СА-125 (≥ 350 од./мл) на старті лікування слугує незалежним фактором поганого прогнозу і може відображати не тільки об'єм пухлинної тканини, але і агресивність процесу [33].

Виходячи із всього вищезгаданого, слід визнати, що скринінгове дослідження СА-125 недостатньо надійне через те, що захворюваність на рак яєчників у популяції настільки мала, що більшість позитивних результатів є помилково-позитивними. З іншого боку, рівень протеїну нижче від 35 од./мл не виключає наявності епітеліального раку яєчників [34]. Приблизно у 1% здорових донорів концентрація СА-125 вище ніж 35 од./мл. Відомо, що інші фізіологічні і патологічні зміни, включаючи перший триместр вагітності, менструація та ендометріоз, часто супроводжуються підвищеним рівнем СА-125.

Н. В. Єрмошина зі співавторами наводять неспростовні докази на користь доцільності використання комбінації трьох маркерів: TPS (тканинний поліпептидний антиген), СА-125 і СА 72-4 для діагностики, прогнозу і моніторингу у хворих муцинозним раком яєчників. У зв'язку з цим, не випадково для підвищення діагностичної значущості маркера під час діагностики злоякісних пухлин різного гістогенезу пропонується використовувати комбінацію з декількох маркерів [23].

Антиген СА 19-9 у нормі синтезується підшлунковою залозою і печінкою плода, а також утворюється пухлинними клітинами. Норма цього онкомаркера в крові людини – до 37 од./мл. Підвищення рівня СА 19-9 – це озна-

ка серйозних онкологічних захворювань: рак підшлункової залози, шлунку, молочної залози, яєчника і матки. Практично всі пацієнти з дуже високими показниками СА 19-9 (вище 10 000 од./мл) мають віддалені метастази [17].

Роль генетичних факторів у схильності до розвитку раку яєчників

На сьогодні роль генетичної складової в патогенезі раку яєчників не викликає сумнівів [4, 35]. Це багатоступінчатий процес накопичення мутацій та інших генетичних змін в онкогенах і генах-супресорах. У свою чергу, це запускає процеси порушення регуляторних механізмів клітини, регуляції клітинного циклу, диференціювання, морфогенетичних реакцій клітини, що веде до неефективного функціонування факторів неспецифічного та специфічного протипухлинного імунітету.

Як показує генетичний аналіз, більшість випадків спадкового раку яєчників пов'язано з гермінальними (або спадковими) мутаціями гену-супресора *BRCA1*. Ген *BRCA1* складається із 22 кодуючих екзонів, розташованих на хромосомі 17q12-21 [36]. Носії мутацій цього локусу хромосоми мають ризик розвитку раку яєчників до 60 років у 70% випадків, цей факт багато авторів пропонують використовувати для генетичного скринінгу [4, 37]. У носіїв пошкодженого гена *BRCA1* часто спостерігається ранній вік виникнення раку яєчників, відзначаються первинно-множинні пухлини із залученням як яєчників, так і молочної залози. Сімейний анамнез таких пацієнток характеризується наявністю раку молочної залози і яєчників у кровних родичів. Хворі, які страждають на *BRCA1*-асоційований рак яєчників, у 80% випадків мають серйозну аденокарциному. Середній вік пацієнток на момент встановлення діагнозу становить 48 років. *BRCA1*-асоційований рак яєчників може мати сприятливіший прогноз, ніж спорадичний рак [36].

Мутації гена *BRCA2* було виявлено в сім'ях, де не спостерігалось зв'язку між синдромом раку молочної залози і яєчників та мутаціями гену *BRCA1*. Ген *BRCA2*, локалізований на хромосомі 13q12-13, складається з 26 кодуючих екзонів. За своїми функціями *BRCA2* також належить до генів-супресорів пухлинного росту. На відміну від *BRCA1*, мутації *BRCA2* можуть бути не тільки спадковими, але й спонтанними і виявлятися

на пізніх стадіях спорадичного раку яєчників [38]. Продукти генів *BRCA1* і *BRCA2* беруть участь у різних клітинних процесах, головним чином, пов'язаних з активацією транскрипції та репарації ДНК. Наприклад, показано, що клітини з інактивованим геном *BRCA2* характеризуються підвищеною чутливістю до мутагенів і інтенсивніше накопичують хромосомні пошкодження [36].

Одним із найвивченіших онкогенів, активація якого досить часто виявляється у разі раку яєчників, є ген *K-RAS*. Продукт гена *K-RAS* належить до класу G-протеїнів і бере участь у різноманітних аспектах регуляції клітинних процесів. Характер мутацій в гені *K-RAS* залежить від гістологічного типу і локалізації пухлини яєчників. Так, мутації *K-RAS* зустрічаються значно частіше в муцинозному порівняно з немучинозним раком яєчників, що дозволяє обговорювати перспективність цього теста для диференціальної діагностики [39]. Зокрема, мутації гена *K-RAS* описані в 61% пограничних пухлин, 68% пухлин низького ступеня злоякісності і 50% муцинозних аденокарцином, але зустрічаються тільки в 5% випадків серйозного раку високого ступеня злоякісності [14].

Другий онкоген, на який в останні роки було звернено увагу дослідників – *c-erbB2/HER2*, який кодує мембранний глікопротеїн родини рецепторів епідермального фактора росту. Ампліфікація і/або гіперекспресія цього гена спостерігається в 10–50% раку яєчників. Однак існують і протилежні дані, що ставить під сумнів практичну значимість тестування цього гена для ранньої діагностики раку яєчників [39].

Істотне місце в патогенезі раку яєчників належить соматичним мутаціям супресорного гена *P53*. Цей ген локалізований на короткому плечі хромосоми 17, в локусі 17p13.1. Він кодує ядерний фосфопротеїн – протеїн p53, який складається із 393 амінокислот і виконує регуляторну роль у циклі клітинного поділу [40]. Продукт гена *P53* також відповідає за апоптоз клітин із критичним пошкодженням ДНК. D. Hanahan та R. Weinberg вважають, що однією з ознак пухлинної трансформації є здатність клітин уникати апоптозу [41]. Мутантна форма протеїну p53 вже не виконує своїх функцій і поділ клітин стає некерованим процесом [42]. Мутації гена *P53* можуть ініціювати канцерогенез (синдром Лі-Фраумені), а також ви-

никати під час росту пухлини, забезпечуючи їй нові агресивні властивості [43, 44]. Вони спостерігаються в 50–80% випадків інвазійного раку високого ступеня злоякісності, але рідко – в інших видах пухлин із низьким потенціалом злоякісності [14]. В епітеліальних пухлинах яєчника експресія мутантного протеїну p53 може досягати 80% [45]. Участь p53 в репарації ДНК і апоптозі вказує на можливу роль його мутацій в розвитку резистентності пухлин до хіміотерапії. Встановлено кореляцію між інактивацією p53 і відсутністю відповіді раку яєчників на препарат цисплатин [46, 47]. Причетність генів апоптозу до патогенезу раку яєчників не обмежується P53. Зокрема, ампліфікацію онкогену *c-myc* в карциномах яєчника було встановлено ще в 80-х роках. Поряд з P53 зараз активно вивчається участь гена *BCL-2* в апоптозі. Показано, що під час прогресування раку яєчників кількість клітин пухлини, які експресують Bcl-2, збільшується [48, 49].

В останні роки увагу широкого кола спеціалістів, зокрема біохіміків і онкологів, прикуто до ензиму теломерази. Основна функція теломераз полягає в перешкоджанні вкороченню теломер (кінцевих ділянок хромосом) у процесі поділу клітин, що забезпечує необмежений резерв проліферації останніх. Теломеразна активність виявляється винятково в незрілих статевих клітинах, постійних клітинних лініях і в пухлинах, але не в нормальних клітинах [14]. Встановлено, що в багатьох типах пухлин наявність активної теломерази корелює з несприятливим прогнозом. Теломераза – зворотна транскриптаза, яка складається з РНК-компонента (hTR) і каталітичної субодиниці (hTERT). Субодиниця hTR експресується всіма клітинами, а експресія hTERT підвищується зі зростанням туморогенного потенціалу; судячи з усього, саме остання визначає теломеразну активність ензиму. Відомо, що під час мутацій гена P53 і експресії тільки субодиниці hTERT відбувається малігнізація клітин поверхневого епітелію яєчників [50], а нормально функціонуючий ген *BRCA* пригнічує активність теломерази. Це підтверджує, що активація теломерази – необхідний етап канцерогенезу, який відбувається на ранніх етапах розвитку злоякісних новоутворень. Теломеразна активність виявляється в 92% карцином яєчника, в 17% пограничних пухлин і не виявляється

в аденомах. При цьому слід відмітити, що найвища активність ензиму виявляється в низькодиференційованих карциномах [51].

Практично для всіх випадків раку яєчників характерна наявність великих делецій генетичного матеріалу. Вважається, що делеції ділянок хромосом відображають інактивацію локалізованих на них супресорних генів, причому в більшості випадків останні залишаються неідентифікованими. Делеції у разі раку яєчників можуть носити як значний (наприклад, втрата хромосоми 17), так і обмежений характер (зокрема, втрата термінальної ділянки короткого плеча хромосоми 1) [52]. Найчастіше делеції зачіпають хромосоми 1, 3, 5, 6, 8, 11, 13, 16, 17, 22 і X [40].

С. Е. Манойлов у 1998 р. висунув концепцію, згідно з якою будь-який канцерогенний агент, незалежно від фізичної і біологічної природи селективно пошкоджує залізовмісні ензими, яким властива антиоксидантна активність. Наслідком цього є гіпоксія. Це призводить до того, що в клітинах пригнічується енергетичний обмін, а це спричинює зниження синтетичних і зростання гідролітичних, в першу чергу, протеолітичних процесів [53]. Основними захисними факторами, здатними в цих умовах обмежити інвазію трансформованих клітин, є інгібітори гідролаз, передусім, серпіни і макроглобуліни [54].

Роль клітин імунної відповіді в розвитку раку яєчників

Центральну роль у протипухлинному захисті організму відіграють Т-лімфоцити, які здійснюють його за рахунок знищення ракових клітин, а також синтезу речовин, що активують інші клітини імунної системи. Т-лімфоцити поділяють на різні типи. Одні Т-лімфоцити вбивають ракові клітини – Т-кілери, інші допомагають останнім вбивати ракові клітини – Т-хелпери. Вважається, що наявність або відсутність певних груп Т-лімфоцитів пов'язана з важливими відмінностями в прогнозі розвитку раку яєчників у хворих. Дослідження парафінізованих тканин підтвердило це положення і показало, що наявність лімфоїдної інфільтрації ПЛ-лімфоцитами (пухлиноінфільтруючими лімфоцитами), такими, як CD3+ і збільшення кількості цитотоксичних лімфоцитів CD8, пов'язано зі збільшенням тривалості життя пацієнтів. Наприклад,

М. Tomsova та співавтори [55] виявили, що пацієнти з високою кількістю CD3+ клітин жили на 60 місяців довше за пацієнтів із низьким вмістом цих клітин [56]. Знищення пухлинних клітин яєчників здійснюється також натуральними кілерами (НК-клітинами), які також інфільтрують пухлини. Використовуючи імуногістохімічне дослідження, автори довели, що пухлини містили також CD4+- і CD8+-клітини, макрофаги становили понад 20% проаналізованих клітин [55].

Наявність CD3+- CD56+-клітин в асцитичній рідині, яку було взято в пацієнтів з раком яєчників зворотно корелює із вмістом васкулярного ендотеліального фактора росту (VEGF). Крім того, низький вміст CD3+ CD56+ корелював із резистентністю до препаратів платини [57] і поганим прогнозом.

Роль аргінази та NO-синтаз у проліферації різних типів злоякісних пухлин

Важливу роль у проліферації пухлинних клітин відіграє метаболізм аргініну, перетворення L-аргініну в оксид азоту (NO) за допомогою синтази оксиду азоту або в орнітин за рахунок аргінази (рис.).

Щодо оксиду азоту, то за різними даними літератури, він відіграє за злоякісного росту подвійну роль. У високих концентраціях він інгібує, а в низьких – стимулює пухлинний ріст і метастазування [62–64]. NO бере участь у промоції канцерогенезу як модифікатор метаболізму ксенобіотиків і як агент, який порушує про- і антиканцерогенний генетичний баланс, спричинюючи одно- і двониткові розриви ДНК [65]. Метаболіт оксиду азоту пероксинітрит (ONOO⁻) є сильним мутагеном [22]. Оскільки NO є фактором, який регулює проникність судин і відіграє важливу роль в ангіогенезі і рості пухлин, дослідження його властивостей дає важливу інформацію для оцінки клінічного перебігу захворювання [66]. При цьому не тільки сам оксид азоту, але і його похідні здійснюють важливі фізіологічні функції, беруть участь у регуляції апоптозу, ангіогенезу, вільнорадикальних процесів [66, 67].

Ендогенний NO утворюється в клітинах ссавців за допомогою трьох ізоформ NO-синтази: eNOS (NOS3), яку було вперше виявлено в процесі конститутивного синтезу в клітинах

ендотелію; індукцибельну iNOS (NOS2) – під час індукції цитокінами в активованих макрофагах, а nNOS (NOS1) спочатку було виявлено за конститутивного синтезу в нейрональних клітинах [68]. Зазвичай eNOS і nNOS утворюють NO на низькому, або фізіологічному рівні. На відміну від них iNOS продукує NO на токсичному рівні.

У лімфоцитах периферичної крові ідентифіковано всі ізоформи NOS. Нашими дослідженнями встановлено, що активність eNOS лімфоцитів крові практично здорових осіб становить $74,60 \pm 6,38$ нмоль NADPH/хв на мг протеїну. Активність iNOS лімфоцитів крові здорових осіб ледве ідентифікується та становить $1,32 \pm 0,18$ нмоль NADPH/хв на мг протеїну. В лімфоцитах крові пацієнток із раком яєчників активність eNOS знижується в 4,1 раза і становить $18,0 \pm 1,6$ нмоль NADPH/хв на мг протеїну. На фоні інгібування eNOS у лімфоцитах крові пацієнток з раком яєчників спостерігається різке зростання активності iNOS до величини $220,1 \pm 24,4$ нмоль NADPH/хв на мг протеїну [69]. Ці результати узгоджуються з даними, одержаними дослідниками раніше, якими також встановлено зростання активності та експресії iNOS у пацієнток з раком яєчників [22]. Показано, що у хворих на рак яєчників експресія iNOS корелює зі ступенем диференціації пухлини, а внутрішньоклітинний NO – зі стадією хвороби. Встановлено, що інгібування iNOS може бути потенційною терапевтичною мішенню за терапії раку яєчників.

Орнітин, один із продуктів обміну L-аргініну, є безпосереднім попередником поліамінів, які відіграють важливу роль у проліферації клітин [70, 71]. На додачу до конкуренції за субстрат, L-аргінін, існують інші взаємодії між двома шляхами метаболізму аргініну, такі як інгібування аргінази NG-гідрокси-L-аргініном, проміжним продуктом біосинтезу NO [72, 73]. Поліаміни є важливими для проліферації неопластичних клітин, виснаження їх рівня веде до зупинки пухлинного росту [74]. Індукцибельна NO-синтаза каталізує утворення NO, який робить внесок у протипухлинну активність активованих макрофагів. iNOS-експресія індукується цитокінами, передусім рекомбінантним цитокіном $\text{IFN-}\alpha$ [75], який може продукуватись певними Т-лімфоцитами і природними кілерами (НК-клітинами), що, в свою чергу, є важливими в адаптивній та

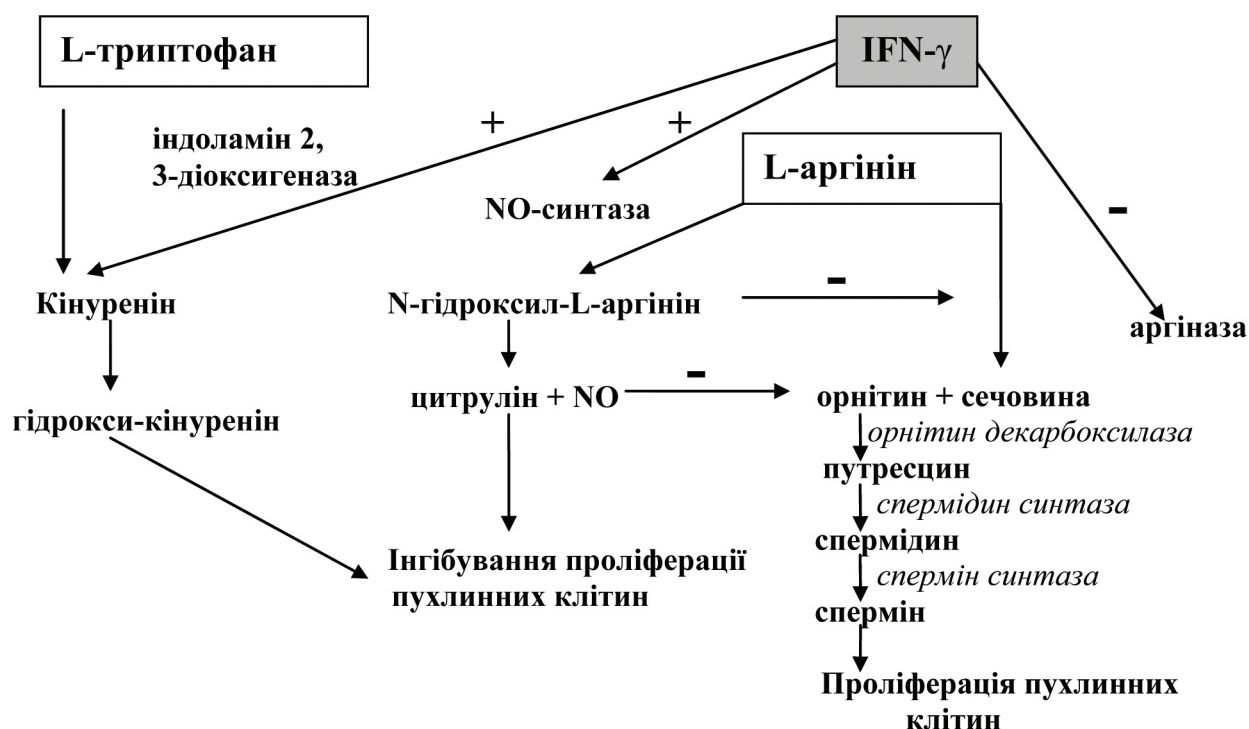


Схема метаболізму *L*-аргініну, який метаболізується або за допомогою синтази оксиду азоту до *N*-гідроксил-*L*-аргініну і NO, або за допомогою аргінази до орнітину і сечовини. IFN- γ індукуює NO-синтазу, але інгібує аргіназу. *N*-гідроксил-*L*-аргінін інгібує аргіназу, а NO інгібує орнітин декарбоксилазу [58]

природній імунній відповіді [67]. iNOS та аргіназа по-різному регулюються про- і протизапальними цитокінами [76, 77]. Крім того, rIFN- γ (rIFN) може мати прямий антипроліферативний ефект на пухлинні клітинні лінії *in vitro*, включаючи низку клітинних ліній раку яєчників [78, 79]. Ця антипроліферативна активність в деяких експериментальних системах залежить від катаболізму іншої амінокислоти, *L*-триптофану, ензимом індоламін 2,3-діоксигеназа (IDO). Протипухлинну активність rIFN- γ , який вводили або інтраперітонеально [80], або системно [81] також було досліджено в клінічних випробуваннях у хворих з епітеліальною карциномою яєчників (EOC).

В. Melichar та колеги досліджували метаболізм *L*-аргініну в клітинних лініях епітеліальної карциноми яєчників. Експресія і активність аргінази варіювали серед EOC клітинних ліній. Аргіназна активність зменшувалася після обробки клітин rIFN- γ у трьох клітинних лініях і зростала в клітинах 2008 і 2008.C13. Механізм інгібування аргінази виявився незалежним від синтезу NO. Аргіназа II –

ізоензим, який відповідає за аргіназну активність у клітинах EOC, тоді як синтез аргінази I не було виявлено. Інгібування росту пухлин EOC, оброблених rIFN- γ не виглядає пов'язаним з інгібуванням аргіназної активності. Хоча ці результати не виключають можливості того, що підвищений рівень активності аргінази в EOC-клітинах і його модуляція rIFN- γ *in vitro* мають так чи інакше відношення до регуляції взаємодії господар–пухлина в пухлинному мікросередовищі *in vivo* [58].

Попередні дослідження показали, що прозапальні цитокіни індукують експресію NO-синтази iNOS та апоптоз у клітинах раку яєчників [82, 83]. Було продемонстровано, що проапоптичний ефект iNOS частково міг бути опосередкований через p53-залежний шлях. Цю гіпотезу підтверджують спостереження, що в нормальних фібробластах людини й епітеліальних клітинах печінки, індукція iNOS стимулює акумуляцію p53 і апоптоз [68]. Хоча на сьогодні, доказів зв'язку NO, p53 і чутливості клітин раку яєчників до хіміотерапевтичних препаратів практично немає. Більшість

епітеліальних ракових клітин людини також експресують iNOS, позитивна експресія якого є індикатором виживаності хворих [84]. Експресія NOS II в пухлинах відіграє важливу роль за метастазування. Експерименти з трансфекції показали, що надекспресія гена NOS II інгібує метастазування в клітинах ниркового епітелію частково за рахунок пришвидшення смерті клітин. В той самий час низька експресія NOS II сприяла росту ракових клітин товстої кишки в людини.

Leung E. L. і співавтори вивчали роль eNOS, iNOS, і nNOS у регуляції і акумуляції p53 та резистентності до хіміотерапевтичного препарату цисплатину (CDDP) в клітинах раку яєчників. У дослідженні було використано CDDP-чутливі клітини OV2008 та їх резистентний до цисплатину варіант – клітини лінії C13*. Було показано, що всі три ізоформи NOS експресуються в обох клітинних лініях (у CDDP-чутливих і CDDP-резистентних), але рівень експресії цих протеїнів по-різному змінюється цисплатином. Одержані дані підтверджують, що iNOS задіяна в CDDP-індукованому апоптозі у CDDP-чутливих клітинах, тоді як eNOS/nNOS беруть участь (p53-незалежний шлях) у розвитку хіміорезистентності шляхом пригнічення CDDP-індукованого апоптозу в ізогенних CDDP-резистентних клітинах [85].

Базовий рівень iNOS був вищим у клітинах OV2008, порівняно з клітинами C13*. Цисплатин значно підвищував синтез iNOS, але різко знижував рівень eNOS і nNOS тільки в CDDP-чутливих клітинах OV2008. Специфічний інгібітор iNOS 1400W частково блокував цисплатиніндукований апоптоз у клітинах OV2008. Нездатність цисплатину підвищувати рівень iNOS і знижувати рівень eNOS/nNOS в цисплатинрезистентних клітинах лінії C13* може бути етіологічним фактором у розвитку резистентності. NO донор S-нітрозо-N-ацетилпеніциламін (SNAP) за використання у високій концентрації (200 і 400 мМ), що генерувала токсичний рівень NO, підвищував рівень протеїну p53 й індукував апоптоз в обох типах клітин, а також збільшував цисплатиніндукований апоптоз в клітинах C13* p53-залежним шляхом [85].

Блокування в CDDP-резистентних клітинах всіх NO-синтаз за допомогою NG-аміно-L-аргініну різко змінювало ці клітини з цисплатинрезистентних на цисплатинчутливі, значно

збільшуючи цисплатиніндукований апоптоз. Ці дані свідчать про важливу роль всіх трьох NO-синтаз у регуляції хіміорезистентності до цисплатину в клітинах раку яєчників, і передбачають потенційно новий шлях зміни їхньої резистентності до терапевтичного ефекту цисплатину.

Функціональний зв'язок між рівнем активності Na^+, K^+ -АТРази і прогресуванням пухлин

Виникнення, перебіг пухлинного росту та його агресивність залежать від порушень внутрішньоклітинних біохімічних процесів, зокрема сигнальних систем [86]. Із позиції сучасної біомембранології відомо, що патогенез багатьох захворювань пов'язаний зі змінами структури та функцій біомембран, у формуванні яких значна роль належить мембранозв'язаним протеїнам, зокрема інтегральним АТР-залежним транспортним системам іонів [87].

Підтримка натрій/калієвого гомеостазу в нормальній тканині здійснюється функціональним α/β -гетеродимерним комплексом Na^+, K^+ -АТРази, для утворення якого необхідна оптимальна коекспресія α - і β -субодиниць ензиму відповідно до генетично детермінованого тканинного і видового ізоензимного набору [88].

Порушення іонного гомеостазу (перш за все, натрій-калієвого) зумовлює розвиток патології росту та диференціювання клітин, що іноді супроводжується посиленою проліферацією їх. Слід підкреслити, що за розвитку раку зниження Na^+, K^+ -АТРази активності внаслідок пригнічення експресії генів і супутнього йому збільшення $[\text{Na}^+]_i$ не призводить до апоптозу. У цьому разі зміна внутрішньоклітинного іонного гомеостазу очевидно являє собою поступовий багатоступеневий процес клітинної адаптації до нових регуляторних умов, що забезпечує безсмертя ракових клітин [86].

Зниження експресії генів субодиниць Na^+, K^+ -АТРази порівняно з нормальним епітелієм є характерним для різних типів карцином. За злоякісної трансформації первинною мішенню в регуляторних змінах всієї гетеродимерної молекули Na^+, K^+ -АТРази, очевидно, є експресія β -субодиниці. Її локалізація в плазматичній мембрані тісно пов'язана із протеїнами клітинної адгезії і цитоскелета [88].

Ліки на основі платини є основними для багатьох хіміотерапевтичних схем, розроблених для лікування раку різної етіології. Оксалиплатин є активним щодо багатьох чутливих до цисплатину форм раку, включаючи рак яєчників [89]. Як і за інших видів хіміотерапії, початкова чутливість клітин до цього цитостатичного препарату може поступово змінитись на резистентність до нього. Виникнення резистентності до препаратів платини відбувається за різними механізмами. Зокрема, на лінії клітин A2780 карциноми яєчників було показано, що резистентність до оксалиплатину і цисплатину, в першу чергу, зумовлена зниженням поглинання цих ліків і збільшенням їх детоксикації шляхом кон'югації із глутатіоном. Ці дослідження підтвердили, що падіння рівня ДНК-платинових аддуктів є наслідком зменшення накопичення вищезгаданих препаратів у клітинах [90–92].

Ще одним із механізмів, задіяних у прогресії клітин карциноми до метастатичного і резистентного до ліків раку є набування епітелієм морфологічних ознак мезенхіми (НЕМОМ) [93]. Під час цього процесу епітеліальні клітини втрачають свою морфологію і перестають експресувати епітеліальні маркери, такі як цитокератини, починають виявляти фенотип фібробластів, що характеризується підвищеною експресією мезенхімних маркерів, таких як віментин і фібронектин [94]. Молекулярні механізми, які ведуть до НЕМОМ, невідомі. Хоча встановлено, що трансформувальний фактор росту (TGF)- β відіграє центральну роль в індукції НЕМОМ, мішені TGF- β передачі сигналу достеменно нез'ясовані. Було показано, що рівень β 1-субодиниці Na^+, K^+ -АТРази ($\text{Na}, \text{K}-\beta$ 1) дуже знижений в диференційованих клітинах карциноми нирок в культурі і в зразках пухлин хворих [95, 96], корелював з їхньою інвазивністю і здатністю до метастазування [97, 98]. Отримано докази, що Na^+, K^+ -АТРаза є новою мішенню TGF- β 1-опосередкованого НЕМОМ в епітеліальних клітинах нирок. Ці дані вказують на функціональний зв'язок між зниженою експресією $\text{Na}, \text{K}-\beta$ 1 і розвитком злоякісних пухлин [99].

У роботі Tummalala R. та співавторів було використано клітинні лінії раку яєчників: A2780, C10B (резистентний клон до оксалиплатину, одержаний з лінії A2780) та C10B- $\text{Na}, \text{K}-\beta$, в яку

було введено за допомогою трансфекції ген $\text{Na}, \text{K}-\beta$ 1-субодиниці [100]. Клітини C10B характеризувалися наявністю морфологічних ознак мезенхімних клітин, зниженим поглинанням платини і підвищеним рівнем глутатіону [91, 92]. Цей колектив авторів перевіряв гіпотезу, що знижений рівень експресії $\text{Na}, \text{K}-\beta$ 1 в клітинах C10B асоційований з резистентністю до оксалиплатину, оцінюючи зв'язок між чутливістю до оксалиплатину, експресією $\text{Na}, \text{K}-\beta$ 1 і акумуляцією платини клітинами C10B, порівняно з клітинами A2780. Результати проведених досліджень виявили, що резистентні клітини C10B мали знижений рівень експресії β 1-субодиниці Na^+, K^+ -АТРази. Екзогенна експресія β 1-субодиниці Na^+, K^+ -АТРази збільшувала поглинання оксалиплатину і клітинну чутливість до препарату незалежно від активності Na^+, K^+ -АТРази [100]. Отже, існує позитивна кореляція між підвищеною експресією $\text{Na}, \text{K}-\beta$ 1 та накопиченням протипухлинних препаратів клітинами за раку яєчників.

β -Субодиниця Na^+, K^+ -АТРази функціонує як молекула, яка забезпечує клітинну адгезію між епітеліальними клітинами [101–103]. Хоча механізм, за допомогою якого $\text{Na}, \text{K}-\beta$ 1 збільшує чутливість до оксалиплатину невідомий, привабливою видається припущення, що функція адгезії $\text{Na}, \text{K}-\beta$ 1 має бути задіяна в цьому процесі. Можливо, що клітини які слабо контактують між собою, є менш чутливими до протипухлинних препаратів порівняно з клітинами, щільно сполученими між собою.

За нашими даними, за раку яєчників активність Na^+, K^+ -АТРази в лімфоцитах периферичної крові знижується з $6,34 \pm 0,36$ (контроль) до $4,18 \pm 0,14$ мкмоль $\text{P}_i/\text{хв}\cdot\text{мг}$ протеїну, що свідчить про перевантаження клітин іонами Na та порушення внутрішньоклітинних процесів [87].

Одержані дані щодо функціонування Na^+, K^+ -АТРази та її субодиниць можуть бути застосовані в діагностиці та лікуванні раку яєчників. По-перше, рівень $\text{Na}, \text{K}-\beta$ 1 може бути використаний як біомаркер для встановлення здатності пацієнтів краще сприймати платинову хіміотерапію. По-друге, у майбутньому можливо буде зробити мішенню ракові клітини, які стали нечутливими до ліків, за допомогою підвищення рівнів $\text{Na}, \text{K}-\beta$ 1 в цих клітинах, використовуючи підходи генної терапії. Існує припу-

щення, що підвищення експресії Na,K-β1 матиме важливе терапевтичне значення для лікування нечутливих до ліків пухлин [100].

Отже, в оглядовій статті висвітлено результати сучасних біохімічних досліджень патогенетичних особливостей раку яєчників. Встановлено, що аргіназа/NO-синтазний шлях обміну L-аргініну відіграє важливу роль у розвитку ракових пухлин яєчника, і що зміна активності аргінази та рівня NO можуть бути використані як маркери для діагностики раку яєчників і мати важливе прогностичне значення. Більше того, інгібітори iNO-синтази та аргінази можуть застосовуватись для підсилення лікувального ефекту низки протипухлинних препаратів. Показано, що визначення АТРазної активності в лімфоцитах периферичної крові дає якісну інформаційну оцінку функціонування імункомпетентних клітин. Порівняння її з іншими фізіологічними та біохімічними характеристиками може мати значення для з'ясування механізмів розвитку раку яєчників.

МАРКЕРЫ И РЕГУЛЯТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ

С. Я. Парижак, О. И. Якубец, З. Д. Воробец

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина;
e-mail: vorobets@meduniv.lviv.ua

Рак яичников – одна из распространенных злокачественных болезней женской репродуктивной системы, чаще всего заканчивается летальным исходом. За последние 20 лет уровень заболеваемости раком яичников в Украине и большинстве стран мира остается стабильно высоким без явной тенденции к снижению. Все это определяет интерес ученых к поиску новых методов ранней диагностики, лечебной тактики, прогностических критериев, в частности биохимических, и мер профилактики данной патологии. Не существует специфических диагностических тестов, которые бы позволили выявить опухоль на ранних этапах ее развития. Несмотря на кажущееся обилие опухолевых маркеров, единственно более-менее надежным тестом при раке яичников является определение антигена CA-125. В обзоре освещены результаты основ-

ных современных исследований, направленных на выяснение регуляторных механизмов, связанных с метаболизмом L-аргинина и активностью АТР-гидролазных систем и поиск новых маркеров рака яичников, установлены основные вероятные претенденты на эту роль.

Ключевые слова: рак яичников, опухолевые маркеры, регуляторные механизмы, метаболизм L-аргинина, активность АТР-гидролаз, антиген CA-125.

MARKERS AND REGULATORY MECHANISMS IN OVARIAN CARCINOMA

S. Ya. Paryzhak, O. I. Yakubets, Z. D. Vorobets

Lviv Danylo Halytsky National Medical University, Ukraine;
e-mail: vorobets@meduniv.lviv.ua

Ovarian carcinoma is one of widely spread malignant diseases of female reproductive system. Mortality rate from it is much higher than from other female malignant diseases. During last 20 years the level of ovarian carcinoma in Ukraine and vast majority of other countries remains high manifesting no signs of decrease. This arouses interest of researchers to development of new methods of early diagnosis, therapeutic approach, prognostic criteria, especially biochemical ones, and means of prophylaxis of this pathology in medical scientific society. At present there are no specific diagnostic tests which would allow revealing the tumor on the initial stages of its development. In spite of wide arsenal of tumor markers, the only reliable test for ovarian carcinoma is determination of antigen CA-125. The results of basic modern research are discussed in this survey. They are aimed at finding out regulatory mechanisms connected with metabolism of L-arginine, activities of ATP-hydrolase systems and searching new markers of ovarian carcinoma. The main possible candidates for this role are determined.

Key words: ovarian carcinoma, tumor markers, regulatory mechanisms, L-arginine metabolism, activities of ATP-hydrolases, antigen CA-125.

References

1. *Urmancheeva A. F., Tjuljandin S. A., Moisejenco V. M.* Practical oncogynecology // Selected lectures. Centre TOMM, St. Petersburg, 2008. – P. 368–375. (In Russian).
2. *Perevodchikova N. I.* Malignant diseases chemotherapy guide. – M: Practical medicine, 2011. – P. 196–207. (In Russian).
3. *Disaia P. J., Creasman W. T.* / Clin. Oncol. Gynecol. – M: Rid Elsiver, 2012. – P. 44–137, 207–232.
4. *Vorobyova L., Svintsitsky V., Tkalya J.* Hormonal carcinogenesis and rationale for the use of hormone therapy in the treatment of patients with ovarian cancer (review) // J. Clin. Oncol. – 2013. – 1, N 9. – P. 56–64. (In Russian).
5. *Cancer in Ukraine, 2010-2011.* Morbidity, mortality indices of Oncology Service // Bulletin of national cancer registry of Ukraine. – Kyiv, 2012. – P. 52–53. (In Ukrainian).
6. *Cancer Incidence in Five Continents Vol. IX, IARC 2007.* – 897 p. // Available at <http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/epi/sp160/index.php>.
7. *Hiljatudzinova Z.* Oncogynaecology: a Guide for physicians / Ed. by M. K. Mikhailov. – M: MEDpress, 2000. – 384 p.
8. *Vorobyova L., Svintsitsky V.* Modern tactics of malignant ovary tumors treatment // Female Reproductive health. – 2005. – 3, N 23. – P. 179–186. (In Russian)
9. *Shamraj D. V., Melnyk N. A., Chajkovsky Ju. B.* Hormonal carcinogenesis of the ovary and its modeling methods // Clin. Anat. Oper. Surg. – 2010. – 9, N 2. – P. 126–130.
10. *Choi J. H., Wong A. S., Huang H. F., Leung P. C.* Gonadotropins and ovarian cancer // Endocr. Rev. – 2007. – 28, N 4. – P. 440–61.
11. *Zheng H., Kavanagh J. J., Hu W., Liao Q., Fu S.* Hormonal therapy in ovarian cancer // Int. J. Gynecol. Cancer. – 2007. – 17, N 2. – P. 325–338.
12. *Choi K. C., Kang S. K., Tai C. J., Auersperg N., Leung P. C.* Follicle-stimulating hormone activates mitogen-activated protein kinase in preneoplastic and neoplastic ovarian surface epithelial cells // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2002. – 87. – P. 2245–2253.
13. *Tashiro H., Katabuchi H., Begum M., Li X., Nitta M., Ohtake H., Okamura H.* Roles of luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor in anchorage-dependent and -independent growth in human ovarian surface epithelial cell lines // Cancer Sc. – 2003. – 94. – P. 953–959.
14. *Landen C. N. Jr., Birrer M. J., Sood A. K.* Early events in the pathogenesis of epithelial ovarian cancer // J. Clin. Oncol. – 2008. – 26. – P. 995–1005.
15. *Karseladze A. I.* Some fundamental notions of oncomorphology in the light of modern molecular biology advances // Arkh. Patol. – 2009. – 71, N 5. – P. 17–20. (In Russian).
16. *Vyshenskyi A. S., Skryabin O. N.* Ovarian tumors // Obstetrics and gynecology. – St. Petersburg, 2000. – P. 1–11. (In Russian).
17. *Sergeeva N. S., Marshutina N. V.* General ideas about the serological biomarkers and their place in Oncology // Practical oncology. – 2011. – 12, N 4. – C. 147–154. (In Russian).
18. *Aleksejeva M. L., Gusarova E. V., Mullabaeva S. M., Ponkratova T. S.* Oncomarkers, their characteristic and some aspects of clinico-diagnostic use. (review) // Reproduction problems. – 2005. – N 3. – P. 65–79. (In Russian).
19. *Lenhard M., Tsvilina A., Schumacher L., Kupka M., Ditsch N., Mayr D., Friese K., Jeschke U.* Human chorionic gonadotropin and its relation to grade, stage and patient survival in ovarian cancer // BMC Cancer. – 2012. – 12, N 2. – P. 127–133.
20. *Nechaeva I. D.* Ovarian tumors. – L.: Medicine, 1987. – 208 p. (In Russian).
21. *Abelev G. I.* Alpha-fetoprotein: biology, biochemistry, molecular genetics // Immunology. – 1993. – N 3. – P. 4–10. (In Russian).
22. *Nomelini R. S., de Abreu Ribeiro L. C., Tavares-Murta B. M., Adad S. J., Murta E. F. C.* Production of nitric oxide and expression of inducible nitric oxide synthase in ovarian cystic tumors // Mediators of Inflamm. – 2008. doi: 10.1155/2008/186584.
23. *Jermoshyna N. V., Sergeeva N. S., Achmedova S. A., Mishunina M. P., Novikova E. G.* Tumor-associated antigen CA 125 in normal and pathological states // Vopr. Onkol. – 2000. – 46, N 5. – P. 529–537. (In Russian).
24. *Markman M., Webster K., Zanotti K., Peterson G., Kulp B., Belinson J.* Examples of the marked variability in the relationship between the serum CA-125 antigen level and cancer-related symptoms in ovarian cancer // Gynecol. Oncol. – 2004. – 93, N 3. – P. 715–717.

25. Chernyshova A. L., Churuksaeva O. N. The role of tumor-associated marker CA-125 in detection of ovarian cancer recurrence // *Siberian Journal of Oncology*. – 2010. – **3**, N 39. – P. 34–37. (In Russian).
26. Bast R. C. CA 125 antigen from idea to the clinical application // *Anticancer Res.* – 1993. – **13**. – P. 1636–1638.
27. Africjan M. N., Zordania K. I. Clinical evaluation carbohydrate antigen CA 125 application in the process of diagnosis and management of patients with ovarian cancer // *Vestnik VONC AMS SSR*. – 1990. – N 2. – P. 22–24. (In Russian).
28. Korneeva I. A., Novikova E. G., Sergeeva N. S. Evolution of a view on the marker recurrence of ovarian cancer // *Rus. J. Oncol.* – 2010. – N 2. – P. 54–57. (In Russian).
29. Kim H., Ju W. The efficacy of systemic lymphadenectomy for overall survival in epithelial ovarian cancer; A systematic review and meta-analysis by KOGYMAG // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – **27**. Abs. E16509.
30. Kandylis K., Vassilomanokalis M., Baziotis N., Papadimitriou A., Tsoussis S., Ferderigou A., Efremidis A. P. Diagnostic significance of the tumour markers CEA, CA 15-3 and CA 125 in malignant effusion in breast cancer // *Ann. Oncol.* – 1990. – **1**. – P. 435–438.
31. Picardo A. L., Torres A., Maestro M. L. Quantitative analysis of carcinoembryonic antigen, squamous cell carcinoma antigen, CA 125 and CA 50 cytosolic content in non-small cell lung cancer // *Cancer (Philad.)*. – 1994. – **73**. – P. 2305–2311.
32. Fateh-Moghadam A., Stieber P. Sensible use of tumor markers / Ed. by J. Hartmann. Basel. – Switzerland: Springer Verlag. – Editiones Roche, 1993. – P. 36–37.
33. Webb A., Scott-Mackie P., Cunningham D. The prognostic value of serum and immuno-histochemical tumor markers in advanced gastric cancer // *Eur. J. Cancer*. – 1996. – **32 A**, N 1. – P. 63–68.
34. Leake J., Woolas R. P., Daniel J., Oram D. H., Brown C. L. Immunocytochemical and serological expression of CA 125: a clinicopathology // *Histopathology*. – 1994. – **24**, N 1. – P. 57–64.
35. Van den Bergh H., Dal Cin P. Some aspects of ovarian tumors // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 1998. – **81**. – P. 283–287.
36. Chanson K. P., Imyaninov E. N. Molecular genetics of ovarian cancer // *Pract. Oncol.* – 2000. – **1**, N 4. – P. 3–6. (In Russian)
37. Narod S. A., Feunteun J., Lynch H. T., Watson P., Conway T. A., Lynch J. F., Lenoir G. M. Familial breast/ovarian cancer locus on chromosome 17q12-q23 // *Lancet*. – 1991. – **338**, N 8759. – P. 82–83.
38. Takahashi H., Chiu H. C., Bandera C. A., Behbakht K., Liu P. C., Couch F. J., Weber B. L., Livolsi V. A., Furusato M., Rebane B. A., Cardonick A., Benjamin I., Morgan M. A., King S. A., Mikuta J. J., Rubin S. C., Boyd J. Mutations of the BRCA2 gene in ovarian carcinoma // *Cancer Res.* – 1996. – **56**, N 12. – P. 2738–2741.
39. Imyaninov E. N., Chernitsa O. I., Serova O. M., Knyazev P. G. Rare occurrence of amplification of HER-2 (erbB-2/neu) oncogene in ovarian cancer patients // *Eur. J. Cancer*. – 1992. – **28A**. – P. 1300.
40. Imyaninov E. N. Molecular mechanisms of tumor growth // *Vopr. Onkol.* – 2010. – **56**, N 2. – P. 117–128. (In Russian).
41. Hanahan D., Weinberg R. Hallmarks of cancer: the next generation // *Cell*. – 2011. – **144**, N 5. – P. 646–674.
42. Cloven N. G., Kyshtoobayeva A., Burger R. A., Yu I. R., Fruehauf J. P. In vitro chemoresistance and biomarker profiles are unique for histologic subtypes of epithelial ovarian cancer // *Gynecol. Oncol.* – 2004. – **92**. – P. 160–166.
43. Kopnin B. P. Targets of oncogenes and tumor suppressors: key for understanding basic mechanisms of carcinogenesis // *Biochemistry (Mosc)*. – 2000. – **65**. – P. 5–33. (In Russian).
44. Kopnin B. P., Kopnin P. B., Khromova N. V., Agapova L. S. Multifaced p53: variety of forms, functions, tumor-suppressive and oncogenic activities // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – **5**, N 1. – P. 3–10. (In Russian).
45. Antoneeva I. I., Petrov S. B. Markers of apoptosis and proliferation of tumor cells in the dynamics of ovarian cancer progressions // *Oncology*. – 2008. – **10**, N 2. – P. 234–237. (In Russian).
46. Milner B. J., Allan L. A., Eccles D. M., Kitchener H. C., Leonard R. C., Kelly K. F., Parkin D. E., Haites N. E. p53 mutation is a common genetic event in ovarian carcinoma // *Cancer Res.* – 1993. – **53**. – P. 2128–2132.

47. Shelling A. N. Role of p53 in drug resistance in ovarian cancer // *Lancet*. – 1997. – **349**. – P. 744–745.
48. McMenamin M. E., O'Neil A., Gaffhey E. Extent of apoptosis in ovarian serous carcinoma: relation to mitotic and proliferation indices, p53 expression and survival // *J. Clin. Pathol.* – 1997. – **50**. – P. 242–246.
49. Yamasaki F., Tokunara O., Susimori H. Apoptotic index in ovarian carcinomas: correlation with clinicopathologic factors and prognosis // *Gynecol. Oncol.* – 1997. – **66**. – P. 439–448.
50. Yang G., Rosen D. G., Mercado-Urbe I., Colacino J. A., Mills G. B., Bast R. C., Jr, Zhou C., Liu J. Knockdown of p53 combined with expression of the catalytic subunit of telomerase is sufficient to immortalize primary human ovarian surface epithelial cells // *Carcinogenesis*. – 2007. – **28**, N 1. – P. 174–182.
51. Murakami J., Nayai N., Ohauta K., Tahara H., Ide T. Telomerase activity in ovarian carcinomas // *Cancer*. – 1997. – **80**. – P. 1085–1092.
52. Imyanitov E. N., Birrell G. W., Filippovich I., Sorokina N., Arnold J., Mould M. A., Wright K., Walsh M., Mok S. C., Lavin M. F., Chenevix-Trench G., Khanna K. K. Frequent loss of heterozygosity at 1p36 in ovarian adenocarcinomas but the gene encoding p73 is unlikely to be the target // *Oncogene*. – 1999. – **18**. – P. 4640–4642.
53. Manojlov S. E. History and evolution of the views about the theoretical basis of the process of carcinogenesis // *Vopr. Onkol. St. Petersburg*. – 1998. – **44**, N 3. – P. 357–359. (In Russian).
54. Zorin N. A., Zorin V. N., Zorin R. M. $\alpha 2$ -macroglobulin the universal modulator of cytokines (review) // *Immunology*. – 2004. – **25**, N 5. – P. 302–304. (In Russian).
55. Tomsova M., Melichar B., Sedlakova I., Steiner I. Prognostic significance of CD3+ tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian carcinoma // *Gynecol. Oncol.* – 2008. – **108**, N 2. – P. 415–420.
56. Gavalas N. G., Karadimou A., Dimopoulos M. A., Bamias A. Immune response in ovarian cancer: how is the immune system involved in prognosis and therapy: potential for treatment utilization // *Clin. Dev. Immunol.* – 2010. – **2010**. Article ID 791603. – 15 p.
57. Bamias A., Koutsoukou V., Terpos E., Tsiatas M. L., Liakos C., Tsitsilonis O., Rodolakis A., Voulgaris Z., Vlahos G., Papageorgiou T., Papatheodoridis G., Archimandritis A., Antsaklis A., Dimopoulos M. A. Correlation of NK T-like CD3+CD56+ cells and CD4+CD25+(hi) regulatory T cells with VEGF and TNF α in ascites from advanced ovarian cancer: association with platinum resistance and prognosis in patients receiving first-line, platinum-based chemotherapy // *Gynecol. Oncol.* – 2008. – **108**, N 2. – P. 421–427.
58. Melichar B., Hu W., Patenia R., Melicharová K., Gallardo S. T., Freedman R. rIFN- γ -mediated growth suppression of platinum-sensitive and -resistant ovarian tumor cell lines not dependent upon arginase inhibition // *J. Translational Medicine*. – 2003. – **1**, N 5. doi:10.1186/1479-5876-1-5.
59. Kurlishchuk Y. V., Bobak Y. P., Vynnytska B. O., Stasyk O. Role of The role of arginine metabolic enzymes in response of tumor cells to deficient of arginine // *Ukr. Biochem. J.* – 2010. **82**, N 4 (Addition 2). – P. 23. (In Ukrainian).
60. Kurlishchuk Y. V., Vynnytska-Myronovska B. O., Bobak Y. P., Sibirny A. A., Stasyk O. V. Influence of arginine metabolites on human tumor cell viability upon arginine deprivation in vitro // *Studia biologica*. – 2011. – **5**, N 2. – P. 5–16. (In Ukrainian).
61. Yakubets' O. I., Vorobets' D. Z., Vorobets' Z. D. Arginase activity of peripheral blood lymphocytes in patients with ovarian carcinoma // *Buk. Med. Herald*. – 2012. – **16**, N 4. – P. 187–190. (In Ukrainian).
62. Broholm H., Brandstrup O., Lauritzen M. Nitric oxide synthase expression of oligodendrogliomas // *Clin. Neuropathol.* – 2001. – **20**, N 6. – P. 233–238.
63. Fukuzowa K., Kogure K., Morita M., Hama S., Manabe S., Tokumura A. Enhancement of nitric oxide and superoxide generations by α -phatocopheryl succinate and its apoptotic and anticancer effects // *Biochemistry (Mosc)*. – 2004. – **69**, N 1. – P. 64–73. (In Russian).
64. Fukumura D., Kashiwagi S., Jain R. K. Role of nitric oxide in tumour progression // *Nat. Rev. Cancer*. – 2006. – **6**, N 7. – P. 521–34.
65. Karimov Kh. Ja., Inoyatova F. Kh., Mukhamedova M. T. Changes in some indices of the synthesis of nitric oxide during the early stages of hepatocarcinogenesis // *Experimental and Toxicol. Pathol.* – 2003. – **55**, N 1. – P. 17–19.
66. Lyu M. B., Podobets I. S., Edigenova A. K., Lyu B. N. Oxygen active forms and peroxyge-

- nation in invasion and metastasis of neoplasm // *Advances in modern biology*. – 2004. – **124**, N 4. – P. 329–341. (In Russian).
67. Bondar T. N. L-arginin/nitric oxide system and immunity // *Exp. Clin. Med.* – 2009. – N 3. – P. 4–8. (In Russian).
 68. Muntané J., De la Mata M. Nitric oxide and cancer // *World J. Hepatol.* – 2010. – **2**, N 9. – P. 337–344.
 69. Yakubets' O. I., Fafula R. V., Vorobets' D. Z., Vorobets' Z. D. Peculiarities of arginase and NO-synthase pathways of L-arginine metabolism in peripheral blood lymphocytes in patients with ovarian cancer // *Ukr. Biochem. J.* – 2013. – **85**, N 5. – P. 105–115. (In Ukrainian).
 70. Morris S. M. Jr. Arginine: beyond protein // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2006. – **83**. – P. 508–512.
 71. Naderpour M., Rad J. S., Ayat E., Mesgari M., Farahani R. M., Roshangar L., Tubbs R. S., Shoja M. M. Dietary L-arginine and cutaneous wound healing // *Ital. J. Anat. Embryol.* – 2008. – **113**, N 3. – P. 135–142.
 72. Daghigh F., Fukuto J. M., Ash D. E. Inhibition of rat liver arginase by an intermediate in NO biosynthesis, NG-Hydroxy-L-arginine: implications for the regulation of nitric oxide biosynthesis by arginase // *Biochem. Bioph. Res. Com.* – 1994. – **202**. – P. 174–180.
 73. Boucher J. L., Custot J., Vadon S., Delaforge M., Lepoivre M., Tenu J. P. N[omega]-Hydroxy-L-Arginine, an intermediate in the L-arginine to Nitric Oxide pathway, is a strong inhibitor of liver and macrophage arginase // *Biochem. Bioph. Res. Com.* – 1994. – **203**. – P. 1614–1621.
 74. Ray R. M., Zimmerman B. J., McCormack S. A., Patel T. B., Johnson L. R. Polyamine depletion arrests cell cycle and induces inhibitors p21(Waf1/Cip1), p27(Kip1), and p53 in IEC-6 cells // *Am. J. Physiol.* – 1999. – **276**. – P. 684–C691.
 75. Peranzoni E., Marigo I., Dolcetti L., Ugel S., Sonda N., Taschin E., Mantelli B., Bronte V., Zanovello P. Role of arginine metabolism in immunity and immunopathology // *Immunobiology*. – 2007. – **212**, N 9–10. – P. 795–812.
 76. Modolell M., Corraliza I. M., Link F., Soler G., Eichmann K. Reciprocal regulation of the nitric oxide synthase/arginase balance in mouse bone marrow-derived macrophages by Th1 and Th2 cytokines // *Eur. J. Immunol.* – 1995. – **25**. – P. 1101–1104.
 77. Munder M., Eichmann K., Modolell M. Alternative metabolic states in murine macrophages reflected by the nitric oxide synthase/arginase balance: competitive regulation by CD4+ T cells correlates with Th1/Th2 phenotype // *J. Immunol.* – 1998. – **160**. – P. 5347–5354.
 78. Burke F., Knowles R. G., East N., Balkwill F. R. The role of indoleamine 2,3-dioxygenase in the anti-tumour activity of human interferon-gamma *in vivo* // *Int. J. Cancer*. – 1995. – **60**. – P. 115–122.
 79. Burke F., Smith P. D., Crompton M. R., Upton C., Balkwill F. R. Cytotoxic response of ovarian cancer cell lines to IFN-gamma is associated with sustained induction of IRF-1 and p21 mRNA // *Brit. J. Cancer*. – 1999. – **80**. – P. 1236–1244.
 80. Pujade-Lauraine E., Guastalla J. P., Colombo N., Devillier P., François E., Fumoleau P., Monnier A., Nooy M., Mignot L., Bugat R. Intraperitoneal recombinant interferon gamma in ovarian cancer patients with residual disease at second-look laparotomy // *J. Clin. Oncol.* – 1996. – **14**. – P. 343–350.
 81. Windbichler G. H., Hausmaninger H., Stummvoll W., Graf A. H., Kainz C., Lahodny J., Denison U., Müller-Holzner E., Marth C. Interferon-gamma in the first-line therapy of ovarian cancer: a randomized phase III trial // *Brit. J. Cancer*. – 2000. – **82**. – P. 1138–1144.
 82. Son K. K., Hall K. J. Nitric oxide-mediated tumor cell killing of cisplatin-based interferongamma gene therapy in murine ovarian carcinoma // *Cancer Gene Ther.* – 2000. – **7**. – P. 1324–1328.
 83. Rieder J., Jahnke R., Schloesser M., Seibel M., Czechowski M., Marth C. Nitric oxide-dependent apoptosis in ovarian carcinoma cell lines // *Gynecol. Oncol.* – 2001. – **82**. – P. 172–176.
 84. Anttila M. A., Voutilainen K., Merivalo S., Saarikoski S., Kosma V. M. Prognostic significance of iNOS in epithelial ovarian cancer // *Gynecol. Oncol.* – 2007. – **105**. – P. 97–103.
 85. Leung E. L., Fraser M., Fiscus R. R., Tsang B. K. Cisplatin alters nitric oxide synthase levels in human ovarian cancer cells: involvement in p53 regulation and cisplatin resistance // *Br. J. Cancer*. – 2008. – **98**. – P. 1803–1809.
 86. Kaplia A. A., Hiznyak S. V., Kudryavceva A. G., Papageorgakopoulou N., Osinsky D. C. Na⁺, K⁺-ATPase and Ca²⁺-ATPase isozymes in malignant neoplasms // *Ukr. Biochem. J.* – 2006. – **78**, N 1. – P. 29–42. (In Russian).

87. Yakubets' O. I., Vorobets' D. Z., Vorobets' Z. D. // Herald of the Dnepropetrovsk National University. Series «Biology. Medicine». – 2012. – **3**, N 1. – P. 146–151. (In Ukrainian).
88. Kaplia A. A., Kudryavceva A. G., Gorchev V. F., Osinsky D. C., Hiznyak S. V. Determination of Na⁺,K⁺-ATPase activity in human colorectal carcinoma // Ukr. Biochem. J. – 2006. – **78**, N 2. – P. 142–148. (In Russian).
89. Mathe G., Kidani Y., Segiguchi M., Eriguchi M., Fredj G., Peytavin G., Misset J. L., Brienza S., de Vassals F., Chenu E. Oxalato-platinum or 1-OHP, a third-generation platinum complex: An experimental and clinical appraisal and preliminary comparison with cis-platinum and carboplatinum // Biomed. Pharmacother. – 1989. – **43**. – P. 237–250.
90. Sherman-Baust C. A., Weeraratna A. T., Rangel L. B., Pizer E. S., Cho K. R., Schwartz D. R., Shock T., Morin P. J. Remodeling of the extracellular matrix through overexpression of collagen VI contributes to cisplatin resistance in ovarian cancer cells // Cancer Cell. – 2003. – **3**. – P. 377–386.
91. Varma R. R., Hector S., Clark K., Greco W. R., Hawthorn L., Pendyala L. Gene expression profiling of a clonal isolate of oxaliplatin resistant ovarian carcinoma cell line A2780/C10 // Oncol. Rep. – 2005. – **14**. – P. 925–932.
92. Hector S., Nava M. E., Clark K., Murpy M., Pendyala L. Characterization of a clonal isolate of an oxaliplatin resistant ovarian carcinoma cell line A2780/C10 // Cancer Lett. – 2007. – **245**. – P. 195–204.
93. Tse J., Kalluri R. Mechanisms of metastasis: epithelial to mesenchymal transition and contribution of tumor microenvironment // J. Cell Biochem. – 2007. – **101**. – P. 816–829.
94. Guarino M., Rubino B., Ballabio G. The role of epithelial-mesenchymal transition in cancer pathology // Pathology (Phila). – 2007. – **39**. – P. 305–318.
95. Rajasekaran S. A., Palmer L. G., Quan K., Harper J. F., Ball W. J. Jr., Bander N. H., Peralta S. A., Rajasekaran A. K. Na,K-ATPase beta-subunit is required for epithelial polarization, suppression of invasion, and cell motility // Mol. Biol. Cell. – 2001. – **12**, N 2. – P. 279–295.
96. Espineda C. E., Chang J. H., Twiss J., Rajasekaran S. A., Rajasekaran A. K. Repression of Na,K-ATPase beta1-subunit by the transcription factor snail in carcinoma // Mol. Biol. Cell. – 2004. – **15**. – P. 1364–1373.
97. Rajasekaran S. A., Gopal J., Willis D., Espineda C., Twiss J. L., Rajasekaran A. K. Na,K-ATPase beta1-subunit increases the translation efficiency of the alpha1-subunit in MSV-MDCK cells // Mol. Biol. Cell. – 2004. – **15**. – P. 3224–3232.
98. Inge L. J., Rajasekaran S. A., Yoshimoto K., Yoshimoto K., Mischel P. S., McBride W., Landaw E., Rajasekaran A. K. Evidence for a potential tumor suppressor role for the Na,K-ATPase beta1-subunit // Histol. Histopathol. – 2008. – **23**. – P. 459–467.
99. Rajasekaran S. A., Huynh T. P., Wolle D. G., Wolle D. G., Espineda C. E., Inge L. J., Skay A., Lassman C., Nicholas S. B., Harper J. F., Reeves A. E., Ahmed M. M., Leatherman J. M., Mullin J. M., Rajasekaran A. K. Na, K-ATPase subunits as markers for epithelial-mesenchymal transition in cancer and fibrosis // Mol. Cancer Ther. – 2010. – **9**, N 6. – P. 1515–1524.
100. Tummala R., Wolle D., Barwe S. P., Sampson V. B., Rajasekaran A. K., Pendyala L. Expression of Na, K-ATPase-beta(1) subunit increases uptake and sensitizes carcinoma cells to oxaliplatin // Cancer Chemother. Pharmacol. – 2009. – **64**, N 6. – P. 1187–1194.
101. Shoshani L., Contreras R. G., Roldan M. L., Moreno J., Lazaro A., Balda M. S., Matter K., Cerejido M. The polarized expression of Na⁺,K⁺-ATPase in epithelia depends on the association between beta-subunits located in neighboring cells // Mol. Biol. Cell. – 2005. – **16**. – P. 1071–1081.
102. Vagin O., Tokhtaeva E., Sachs G. The role of the beta1 subunit of the Na,K-ATPase and its glycosylation in cell-cell adhesion // J. Biol. Chem. – 2006. – **281**. – P. 39573–39587.
103. Barwe S. P., Kim S., Rajasekaran S. A., Bowie J. U., Rajasekaran A. K. Janus model of the Na,K-ATPase beta-subunit transmembrane domain: distinct faces mediate alpha/beta assembly and beta-beta homo-oligomerization // J. Mol. Biol. – 2007. – **365**. – P. 706–714.

Отримано 09.09.2013