

## Асцит как микроокружение опухоли при раке яичников: взаимосвязь прогноза и химиорезистентности

А.Б. Виллерт<sup>1</sup>, Л.А. Коломиец<sup>1,2</sup>, Н.В. Юнусова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»; Россия, 634009 Томск, Кооперативный переулок, 5;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 634050 Томск, Московский тракт, 2

**Контакты:** Алиса Борисовна Виллерт [avillert@yandex.ru](mailto:avillert@yandex.ru)

Выраженная гетерогенность карцином яичника на молекулярно-генетическом уровне сопряжена с отсутствием специфических маркеров химиорезистентности. При этом асцит является привлекательной биологической жидкостью для обнаружения биомаркеров, поскольку она легкодоступна для получения. Данный обзор посвящен последним достижениям в изучении особенностей компонентов асцитической жидкости в аспекте их взаимосвязи с химиорезистентностью. Представлены собственные данные, касающиеся содержания параметров системы IFR (свободных IGFs, а также IGFBP-3, IGFBP-4 и PAPP-A) в асцитической жидкости и опухолевой ткани при диссеминированном раке яичников, которые свидетельствуют о значимости их изучения. Показано, что уровень белков системы IGF существенно зависит от объема асцитической жидкости. Изучение особенностей асцитической жидкости при раке яичников напрямую связано с перспективой появления новых возможностей для терапии диссеминированного рака яичников.

**Ключевые слова:** рак яичников, асцит, прогноз, химиорезистентность

**Для цитирования:** Виллерт А.Б., Коломиец Л.А., Юнусова Н.В. Асцит как микроокружение опухоли при раке яичников: взаимосвязь прогноза и химиорезистентности. *Успехи молекулярной онкологии* 2019;6(2):8–20.

DOI: 10.17650/2313-805X-2019-6-2-8-20

### Ascitis as a unique microenvironment of tumors in ovarian cancer: interaction with prognosis and chemoresistance

A. B. Villert<sup>1</sup>, L. A. Kolomiets<sup>1,2</sup>, N. V. Yunusova<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences; 5 Kooperativny Pereulok, Tomsk 634009, Russia;

<sup>2</sup>Siberian State Medical University, Ministry of Health of Russia; 2 Moskovskiy Trakt, Tomsk 634050, Russia

The severe heterogeneity of ovarian carcinomas on the molecular genetic level is associated with the absence of specific markers of chemoresistance. At the same time, ascites is an attractive biomarker detection fluid because it is easily obtained. The review is dedicated to the latest advances in the study of components characteristics of ascitic fluid in terms of their relationship with chemoresistance. Own data are submitted regarding the contents of the IFR system parameters (free IGFs, as well as IGFBP-3, IGFBP-4 and PAPP-A) in ascitic fluids and tumor tissue in disseminated ovarian cancer, which show the importance of their study. It is shown that the proteins level of the IGF system substantially depend on the volume of ascitic fluid. Studying the features of ascitic fluid in ovarian cancer is directly related to the prospect of new opportunities for disseminated ovarian cancer treatment.

**Key words:** ovarian cancer, ascites, prognosis, chemoresistance

**For citation:** Villert A. B., Kolomiets L. A., Yunusova N. V. Ascitis as a unique microenvironment of tumors in ovarian cancer: interaction with prognosis and chemoresistance. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2019;6(2):8–20.

Рак яичников (РЯ) представляет собой чрезвычайно гетерогенное заболевание. На сегодняшний день не существует абсолютных признаков чувствительности и резистентности опухоли к лекарственным препаратам. Отсутствие очевидных мишеней в терапии РЯ продиктовано дефицитом четких представлений о патогенезе данного заболевания. Поиск маркеров прогнозирования течения и эффективности лечения активно продолжается и сопряжен с исследованием не только опухолевой ткани, но и асцитической жидкости.

#### Асцит и его компоненты как предмет исследований при раке яичников

Асцит представляет собой уникальное микроокружение опухоли, обеспечивающее физический субстрат для накопления клеточного и бесклеточного компонентов. Стандартным методом изучения клеточного компонента асцитической жидкости является цитологическое исследование, направленное на выявление атипичных клеток. Более глубокое изучение клеточного состава асцита доступно при применении

проточной цитометрии, иммунофлуоресценции и т. д. Существующий в настоящее время вопрос, касающийся идентичности молекулярно-генетических характеристик свободно флотирующих в асцитической жидкости опухолевых клеток и клеток, представляющих массив опухоли, остается пока открытым, хотя нельзя не принимать во внимание, что фенотипически эти клетки неодинаковы, а согласно представлениям клональной эволюции должны отражать разные этапы опухолевой прогрессии с высокой вероятностью различий не только в уровнях экспрессии молекул клеточной адгезии, таких как Е-кадгерин [1]. Популяции клеток выполняют определенные функции и связаны друг с другом системой сигналов с помощью «внутренних» растворимых факторов (бесклеточный компонент асцита) [2].

**Бесклеточный компонент асцита** обеспечивает связь клеточного компонента посредством растворимых факторов (ростовые факторы, цитокины, белки, метаболиты), а также внеклеточных везикул [3].

**Цитокиновый профиль асцита** при РЯ демонстрирует присутствие как проонкогенных факторов, так и антионкогенных [4–7]. Показано значительное увеличение проонкогенных цитокинов IL-6, -8, -10, -15, IP-10, MCP-1, MIP-1b и VEGF (сосудистый эндотелиальный фактор роста) при значимом снижении уровней IL-2, -5, -7, -17, PDGF-BB (тромбоцитарный фактор роста BB) и RANTES (цитокин A5, хемокин, выделяемый Т-клетками при активации). Эти факторы в совокупности способствуют созданию провоспалительного и иммуносупрессивного микроокружения опухоли [7]. Среди них IL-6 и -10 привлекают наибольшее внимание из-за их корреляции с плохими прогнозом и ответом на терапию [5, 8]. Также показано, что IL-6 является независимым прогностическим фактором худшего исхода при РЯ [5].

Целью исследования D. Lane и соавт. была оценка 6 факторов воспаления в асцитической жидкости: IL-6, -10, остеопротегерин, лептин, suPAR (растворимая форма рецептора урокиназного плазминогена) и CCL-18 (CC-хемокина) в качестве диагностических биомаркеров для предсказания лекарственной устойчивости у 52 пациенток с диссеминированным серозным РЯ. Установлена взаимосвязь диссеминации процесса и IL-6, который может быть использован в комбинации с сывороточным CA125 для дифференциальной диагностики доброкачественного и злокачественного процессов, а комбинация сывороточного CA125 и лептина в асците может служить предиктором резистентности к терапии 1-й линии [8].

Ретроспективный анализ цитокинового и хемокинового профилей асцита у больных диссеминированным РЯ на этапе первичной циторедукции проведен во взаимосвязи с безрецидивной и общей выживаемостью. Показано, что сочетание высоких уровней TNF- $\alpha$  (фактора некроза опухоли  $\alpha$ ) и IL-6 в асците при первичной хирургии предсказывает худшую без-

рецидивную выживаемость, что позволило авторам рассматривать TNF- $\alpha$  и IL-6 в асците в качестве маркеров рецидива заболевания [9].

Изучение ряда цитокинов, протеинов и ростовых факторов (IL-6, -8, dickkopf-1 (растворимого белка, ингибитора сигнального пути WNT), GDF-15 (ростового фактора дифференцировки 15), TRAIL 10 (фактора некроза опухоли 10), OPG (остеопротегерина), остеопонтин, остеоонектин, HE4 (человеческого эпидидимального секреторного белка 4), SCF (фактора роста стволовых клеток)) проведено во взаимосвязи с клинической стадией, фактом наличия опухолевых клеток в асцитической жидкости [10]. Стадия была ассоциирована только с фактором стволовых клеток и остеопротегерином: более низкий уровень фактора стволовых клеток и более высокий уровень остеопротегерина наблюдали при диссеминированном РЯ по сравнению с локализованными формами. Значительное снижение уровня фактора стволовых клеток и увеличение остеопротегерина и IL-6 наблюдалось при положительной перитонеальной цитологии. Перитонеальная диссеминация также была взаимосвязана с более высокими уровнями TRAIL 10, остеоонектина и IL-6 [10].

Химический состав, или метаболический профиль асцитической жидкости, косвенно отражает биохимические процессы, происходящие на брюшине и органах брюшной полости, однако до настоящего момента остается недостаточно изученным. В целом метаболическое перепрограммирование не входило в круг интересов онкологических исследований до начала 1990-х годов. Более того, в онкологии отказывались признавать изменения метаболизма как признак рака. Лишь в 2011 г. этот фактор был утвержден в качестве отличительной особенности злокачественно трансформированных клеток.

Результаты исследования метаболического профиля при асцитах разной этиологии отражают характер особенностей, лежащих в основе вызвавших и поддерживающих их процессов.

Изучение состава метаболитов в асците продемонстрировало, что наиболее важные различия состава при эпителиальных карциномах яичника и портальном циррозе касаются концентрации жирных кислот, холестерина, церамидов, глицерол-3-фосфата и глюкозы. Было обнаружено, что 2-гидроксиизовалерат присутствует в наименьших концентрациях при РЯ, тогда как глюкозо-1-фосфат является доминирующим метаболитом в злокачественном асците. В настоящее время неизвестна причина истощения 2-гидроксиизовалерата в асците при РЯ. При этом ясно, что распад аминокислот с разветвленной цепью приводит к продукции 2-гидроксиизовалерата в организме [11], его концентрация указывает на увеличение катаболизма аминокислот, и его уровень повышается в моче у пациентов с лакто- и кетоацидозом [12]. Второй метаболит, глюкозо-1-фосфат, является продуктом анаэробного

распада углеводов, и повышение его уровня указывает на увеличение использования глюкозы микроокружением асцитной опухоли [12]. Однако для подтверждения факта изменения метаболизма клеток карциномы необходимы данные по измерению параметров поглощения глюкозы и уровню конечного продукта анаэробного гликолиза – лактата – в опухоли и микроокружении асцитной опухоли. Существуют данные об эффективном применении позитронно-эмиссионной томографии с использованием  $^{18}\text{F}$ -фтордезоксиглюкозы для диагностики РЯ [13].

В 2015 г. продемонстрирована потенциальная избирательная цитотоксичность посредством таргетного воздействия на различные метаболические характеристики клеток карцином яичника: было обнаружено, что при РЯ сверхэкспрессирован транспортер глюкозы типа 1 (GLUT1) [14]. В данном исследовании описана селективная цитотоксичность ресвератрола в клетках карцином яичника посредством регуляции метаболизма глюкозы с помощью модуляции GLUT1. Показано, что ресвератрол селективно ингибирует поглощение глюкозы и индуцирует апоптоз независимо от статуса p53 *in vitro*, не влияет на экспрессию GLUT1 (уровни мРНК и белка), но прерывает внутриклеточный перенос GLUT1 через плазматическую мембрану. Было обнаружено, что такая супрессия GLUT1 при РЯ связана с ингибированием активности Akt. В совокупности эти данные свидетельствовали о том, что ресвератрол индуцирует апоптоз в клетках карцином яичника посредством нарушения усвоения глюкозы [14].

Транспортеры глюкозы GLUT1, GLUT3 и гликолитический фермент гексокиназа II сверхэкспрессируются в некоторых опухолевых клетках и являются показателем плохого прогноза при различных злокачественных новообразованиях, включая и РЯ [15]. D. Suh и соавт. по результатам иммуногистохимического исследования экспрессии гексокиназы II в 111 образцах карцином яичника показали взаимосвязь ее гиперэкспрессии с химиорезистентностью, низкой безрецидивной выживаемостью и худшей общей выживаемостью [16].

Результаты эпидемиологических и доклинических исследований указывают на ключевое значение метаболизма глюкозы при РЯ. Противоопухолевый механизм лекарственного средства 1-й линии терапии сахарного диабета 2-го типа метформина связан с ингибированием mTOR, иммуномодулирующим действием препарата на раковые клетки. Согласно доклиническим данным метформин может ингибировать апоптоз, а также увеличивает популяцию Т-клеток эффекторной памяти, тем самым усиливая иммунный ответ против опухолевых клеток [17]. Строма опухоли пациентов при терапии метформином проявляет более низкую экспрессию IL-6, обусловленную подавлением передачи сигналов нуклеинового фактора  $\kappa\text{B}$ . Показан новый механизм метформина в подавлении прогрессирования РЯ за счет уменьшения индуцированной

химиотерапией стромальной активации, и предложено его включение в схему комбинированной терапии для улучшения химиочувствительности при РЯ.

Большая часть исследований по изучению роли метформина касается рака молочной железы и рака эндометрия. В исследовании II фазы при диссеминированном РЯ показано, что метформин оказывает противоопухолевый эффект, опосредованный воздействием на опухолевые стволовые клетки [18].

С учетом скомпрометированности иммунной системы у пациентов с резистентностью к инсулину предполагается, что терапия метформином может приводить к различным противоопухолевым эффектам, в связи с чем рекомендуется оценивать результаты лечения в соответствии со статусом резистентности [19].

Исследование V.O. Shender и соавт. (2014), посвященное изучению большого количества метаболитов и белков в асците в целях исключения компонентов, определяемых системным ответом, связанным с образованием асцита, также было проведено в аспекте сравнения с асцитом цирротического происхождения. Из всех изучаемых параметров был выявлен 41 метаболит, концентрация которого была значимо выше при раке, чем при циррозе. При этом большинство идентифицированных метаболитов было представлено важными сигнальными молекулами [20]. Авторы показали, что содержание гликолята, глюкозы, фуранозы и фруктозы было значительно ниже, тогда как глицерин-3-фосфата, холестерина, церамида и моноацилглицерина – гораздо выше у пациенток с асцитом при РЯ [20]. Церамид, производные жирных кислот [21] и LPA (лизофосфатидиловая кислота – продукт расщепления лецитина) были идентифицированы только при злокачественном асците [20].

Метаболический фенотип рака в настоящее время рассматривается как важная мишень для противораковой терапии.

### **Белковый компонент асцита**

Асцитическая жидкость содержит большое количество ростовых факторов. Список ростовых факторов, идентифицированных в асците при РЯ, представлен в табл. 1.

В изучении важное место занимают параметры системы инсулиноподобных факторов роста (IFR).

Система IFR включает IFR I, II и рецептор IFR 1-го типа [22, 23]. Регуляция этой системы на клеточном уровне осуществляется 6 белками, связывающими IFR (insulin-like growth factor binding proteins, IFRBP) и расщепляющими их протеиназами. К их числу относят белок, ассоциированный с беременностью (pregnancy-associated plasma protein, PAPP-A), являющийся металлопротеиназой и принимающий участие в гидролизе белков системы IFR. Протеасомы участвуют в регуляции данной системы [24]. При связывании IFR с рецептором активируются множественные сигнальные пути, что ведет к стимуляции клеточной

**Таблица 1.** Цитокины и ростовые факторы, идентифицированные в асците (данные PubMed за 2014–2018 гг.; ключевые слова: growth factors, ascites, ovarian cancer)

**Table 1.** Cytokines and growth factors identified in ascites (PubMed 2014–2018 data; key words: growth factors, ascites, ovarian cancer)

Фактор роста Growth factor	Контекст Context	Источник литературы Source
IL-10, VEGF-A	Уровень IL-10 повышен в асците при диссеминированном РЯ в сравнении с I/II стадией и перитонеальным выпотом при доброкачественной патологии. Уровень IL-10 в асците положительно коррелировал со способностью асцита стимулировать миграцию клеток, но не пролиферацию The level of IL-10 in comparison with stage I/II and peritoneal effusion in benign pathology. The level of IL-10 in ascites stimulates cell migration, but not proliferation	[25]
	Только одновременная блокада PD-1 и нейтрализация IL-10 приводит к улучшению выживаемости и замедлению роста опухоли при РЯ. Компенсаторное высвобождение IL-10 приводит к снижению эффективности монотерапии анти-PD-1 (или анти-PD-L1) Only simultaneous blockade of PD-1 and neutralization of IL-10 leads to improved survival and slowed tumor growth in OC. Compensatory release of IL-10 reduces the effectiveness of anti-PD-1 (or anti-PD-L1) monotherapy	[26]
	Более высокие уровни IL-6 и VEGF-A в асцитической жидкости связаны с меньшей выживаемостью без прогрессирования Higher levels of IL-6 and VEGF-A in ascitic fluid are associated with lower progression-free survival	[27]
IL-6, TNF- $\alpha$ , 8-IP	Уровни IL-6, 8-IP в асците по сравнению с содержанием в плазме выше, а TNF- $\alpha$ – ниже. В случае платинорезистентного и платинорефрактерного течения РЯ наблюдается дисрегуляция между окислителями, антиоксидантами и провоспалительными цитокинами Levels of IL-6, 8-IP in ascites compared with plasma levels are higher, and TNF- $\alpha$ levels are lower. In the case of platinum-resistant and platinum-refractory OC flow, there is dysregulation between oxidants, antioxidants and pro-inflammatory cytokines	[28]
	Комбинация высокого уровня TNF- $\alpha$ и IL-6 до лечения коррелирует с диссеминацией процесса и худшей выживаемостью без прогрессирования The combination of high levels of TNF- $\alpha$ and IL-6 before treatment correlates with dissemination of the process and worse progression-free survival	[9]
IL-6, лептин, CA125 IL-6, leptin, CA125	IL-6 связан с диссеминацией РЯ и может быть использован в дифференциальной диагностике объемных образований яичников в сочетании с сывороточным CA125. Комбинация сывороточного CA125 и асцитного лептина – предиктор резистентности к химиотерапии 1-й линии IL-6 is associated with dissemination of the ovarian cancer and can be used in the differential diagnosis of ovarian volume lesions in combination with serum CA125. The combination of serum CA125 and ascitic leptin is a predictor of resistance to 1st-line chemotherapy	[8]
IL-6R	Уровень экспрессии IL-6R на клеточной мембране опухолевых клеток коррелирует с индуцированной асцитом инвазией. Использование нейтрализующих антител к IL-6 подавляет стимулирующее действие асцита на опухоль. Селективное ингибирование с IL-6/IL-6R подавляет экспрессию белков, связанных с эпителиально-мезенхимальным переходом и может быть перспективной терапевтической мишенью The expression level of IL-6R on the cell membrane of tumor cells correlates with ascites-induced invasion. The use of neutralizing antibodies to IL-6 suppresses the stimulating effect of ascites on the tumor. Selective inhibition with IL-6/IL-6R-mediated signaling pathway JAK2-STAT3 inhibits the expression of proteins associated with epithelial-mesenchymal transition, and may be a promising therapeutic target	[29]
IL-10 и PGE2	Содержащиеся в асците IL-10 и PGE2 обладают иммуносупрессивным эффектом за счет комплементарного подавляющего влияния на TLR-опосредованную активацию дендритных клеток при РЯ IL-10 and PGE2 contained in ascites have an immunosuppressive effect due to the complementary inhibitory effect on TLR-mediated activation of dendritic cells in OC	[30]
TRAIL, остеоонектин, IL-6 TRAIL, osteonectin, IL-6	Уровни TRAIL, остеоонектина и IL-6 связаны с диссеминированным РЯ TRAIL, osteonectin and IL-6 levels are associated with disseminated OC	[10]

Фактор роста Growth factor	Контекст Context	Источник литературы Source
Ang-2	Содержание моноцитов, экспрессирующих Tie2 (TEM), высокое как в опухоли, так и в асците и периферической крови. Ang-2 (лиганд Tie2) и увеличение TEM взаимосвязаны: TEM способствуют ангиогенезу посредством IGF I, через стимуляцию Ang-2 (как <i>in vivo</i> , так и <i>in vitro</i> ) The content of monocytes expressing Tie2 (TEM) is high both in the tumor and in ascites and peripheral blood. Ang-2 (Tie2 ligand) and increase in TEM are interrelated: TEM promotes angiogenesis through IGF I, through stimulation of Ang-2 (both <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> )	[31]
VEGF/VEGFR2, Ang/Tie2	Комбинированное ингибирование путей VEGF/VEGFR2 и Ang/Tie2 обеспечивает больший эффект антиангиогенной терапии у мышей. Антиангиогенная терапия препятствует накоплению асцита The combined inhibition of the VEGF/VEGFR2 and Ang/Tie2 pathways provides a greater effect of antiangiogenic therapy in mice. Antiangiogenic therapy prevents the accumulation of ascites	[32]
	Клинически агрессивный РЯ может быть связан с ранним нарушением регуляции системы ангиогенеза, способствующим образованию асцита. Эти пациенты могут получить пользу от терапевтического ингибирования VEGF Clinically aggressive OC may be associated with early dysregulation of the system of angiogenesis, contributing to the formation of ascites. These patients may benefit from therapeutic inhibition of VEGF	[33]
	VEGF – независимый прогностический фактор для общей выживаемости при любой стадии РЯ VEGF is an independent prognostic factor for overall survival at any stage of OC	[34]
	Интраперитонеальная химиотерапия цисплатином и бевацизумабом приводит к снижению содержания VEGF в асците по сравнению с исходным уровнем Intraperitoneal chemotherapy with cisplatin and bevacizumab leads to a decrease in the content of VEGF in ascites compared with the initial level	[35]
	Ангиогенная активность асцита при РЯ является маркером прогрессирования заболевания, взаимосвязана с VEGF и IL-8 The angiogenic activity of ascites in OC is a marker of disease progression, interconnected with VEGF and IL-8	[36]
	VEGF-C/VEGFR3 способствует прогрессированию РЯ VEGF-C/VEGFR3 contribute to the progression of OC	[37]
IL-17a и IL-21	IL-17a и IL-21 демонстрируют значительное влияние на общую выживаемость, по результатам мультивариантного анализа IL-17a and IL-21 show a significant effect on overall survival, according to the results of a multivariate analysis	[38]
Периостин Periostin	Уровень периостина повышен в асците при РЯ и коррелирует с CD163 <sup>+</sup> TAMs. Периостин является важным фактором для привлечения макрофагов в микроокружение опухоли, участвует во взаимодействии макрофагов и клеток карциномы яичника Periostin levels are elevated in ascites with OC and correlated with CD163 <sup>+</sup> TAMs. Periostin is an important factor for the involvement of macrophages in the tumor microenvironment, is involved in the interaction of macrophages and ovarian carcinoma cells	[39]
IGF, IGFБPs	Уровень IGF I в асците является независимым предиктором объективного клинического ответа в случае назначения неoadъювантной химиотерапии перед циторедуктивным вмешательством The level of IGF I in ascites is an independent predictor of an objective clinical response in the case of the appointment of neoadjuvant chemotherapy before cytoreductive intervention	[40]
	IGF могут ингибировать DC-опосредованный противоопухолевый иммунитет, а ингибитор IGF IR может его восстанавливать. Блокада IGF является потенциальной стратегией иммунотерапии рака IGF can inhibit DC-mediated antitumor immunity, and an IGF inhibitor IR can restore it. IGF blockade is a potential cancer immunotherapy strategy	[41]
PAPP-A	Асцит содержит намного более высокие уровни PAPP-A по сравнению с сывороткой. Как растворимый в асците, так и связанный с тканями, PAPP-A стимулирует опосредованный IGF IR рост опухоли Ascites contains much higher levels of PAPP-A compared with serum. As soluble in ascites and associated with tissues, PAPP-A stimulates IGF-mediated IR tumor growth	[41]

Окончание табл. 1

The end of table 1

Фактор роста Growth factor	Контекст Context	Источник литературы Source
TGF $\beta$	Модуляция передачи сигналов с TGF $\beta$ с использованием ингибитора рецептора типа 1 SB-431542 блокирует эндогенную активацию EMT у сфероидов, а повторная обработка сфероидов SB-431542 после повторного присоединения усиливает эпителиальный фенотип клеток, значительно снижая их подвижность и миграцию Modulation of TGF $\beta$ signaling using the TGF $\beta$ type 1 receptor inhibitor SB-431542 blocks endogenous EMT activation in spheroids, and repeated treatment of SB-431542 spheroids after reattachment enhances the epithelial cell phenotype, significantly reducing their mobility and migration	[42]
FGF basic, PDGF-AB/PDGF-BB, TSP-2, FGF acidic, HB-EGF	По результату оценки экспрессии 55 факторов, связанных с ангиогенезом, выделено 25, диагностическая точность которых в отношении определения чувствительности к антиангиогенным препаратам приближена к 90 %, превышает значимость клинических параметров (стадия, гистотип, размер остаточной опухоли) и уровень VEGF в асците. Из исследуемых 25 параметров 5 обладают наибольшей точностью The evaluation of the expression of 55 factors associated with angiogenesis highlighted 25, the diagnostic accuracy of which in relation to determining sensitivity to antiangiogenic drugs is close to 90 %, exceeds the significance of clinical parameters (stage, histotype, size of residual tumor) and the level of VEGF in ascites. Of the 25 parameters studied, 5 are the most accurate	[43]

**Примечание.** IL – интерлейкин; VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста; РЯ – рак яичников; PD-1 – рецептор программируемой клеточной смерти 1; TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухоли  $\alpha$ ; 8-IP – 8-изопропан; CA125 – раковый антиген 125; PGE2 – простагландин E2; TLR – Toll-подобный рецептор; TRAIL – цитокин семейства факторов некроза опухоли, лиганд, вызывающий апоптоз; Ang-2 – ангиопоэтин 2; Tie2 – рецептор ангиопоэтинов 1, 2; CD163<sup>+</sup> TAMs – CD163<sup>+</sup> опухоль ассоциированные макрофаги; IGF – инсулиноподобный фактор роста; IGFBP – протеины, связывающие инсулиноподобные факторы роста; DC – дендритные клетки; PAPP-A – ассоциированный с беременностью протеин плазмы А; TGF $\beta$  – трансформирующий ростовой фактор  $\beta$ ; SB-431542 – таргетный ингибитор TGF $\beta$ -сигнального каскада; FGF basic – основной фактор роста фибробластов, PDGF-AB/PDGF-BB – тромбоцитарные факторы роста AB/BB; TSP-2 – тромбоспондин 2; FGF acidic – кислый фактор роста фибробластов; HB-EGF – эпидермальный фактор роста.

**Note.** IL – interleukin; VEGF – vascular endothelial growth factor; OC – ovarian cancer; PD-1 – programmed cell death 1; TNF- $\alpha$  – tumor necrosis factor  $\alpha$ ; 8-IP – 8-isoprostan; CA125 – cancer antigen 125; PGE2 – prostaglandin E2; TLR – targeting toll-like receptor; TRAIL – tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand; Ang-2 – angiopoietin-2; Tie2 – angiopoietin receptor; CD163<sup>+</sup> TAMs – CD163<sup>+</sup> tumor-associated macrophages; IGF – insulin-like growth factor; IGFBP – insulin-like growth factor-binding protein; DC – dendritic cells; PAPP-A – pregnancy-associated plasma protein A; TGF $\beta$  – transforming growth factor  $\beta$ ; SB-431542 – transforming growth factor  $\beta$  signaling inhibitor; FGF basic – fibroblast growth factor 2, basic; PDGF-AB/PDGF-BB – platelet-derived growth factor AB/BB; TSP-2 – thrombospondin 2; FGF acidic – fibroblast growth factor 1, acidic; HB-EGF – heparin-binding epidermal growth factor.

пролиферации. Имеются данные, что высокий уровень IGFBP-3 до химиотерапии и высокий уровень IGF II после химиотерапии в асците у больных РЯ коррелируют с низкой общей выживаемостью [44, 45].

По результатам изучения параметров системы IGFs, IGFBP-3, IGFBP-4 и металлопротеиназы PAPP-A у 40 больных с карциномами яичников стадии IIIС–IVА было показано, что уровни обоих факторов роста и связывающих белков в асците превышали соответствующие показатели в первичной опухоли более чем в 10 раз. Различий в отношении PAPP-A выявлено не было. В работе был проведен анализ взаимосвязей уровней компонентов ИФР-системы в опухоли и асците. Были выявлены множественные корреляции между уровнями IGFs и IGFBPs в асците, а также между IGF и IGFBPs в опухолях (табл. 2). Максимальный уровень IGF II и PAPP-A выявлен у больных с умеренным количеством асцита (от 200 до 1000 мл) (табл. 3). Уровень металлопротеиназы PAPP-A был значительно выше у пациенток с умеренным и выраженным асцитом по сравнению с больными со следовыми количествами асцита ( $p < 0,05$ ). При большом количестве асцитической жидкости

(>1000 мл) при высоком уровне PAPP-A уровень обоих ростовых факторов, особенно IGF II, снижался ( $p < 0,05$ ). Полученные данные подтверждали наличие множественных взаимосвязей между уровнями IGFs в асците и уровнями IGF и IGFBPs в опухоли [40].

#### Протеомика асцита. Белки клеточной подвижности

Представляет интерес углубленный протеомный анализ асцитической жидкости при РЯ, опубликованный L. Gortzak-Uzan и соавт. в 2008 г., в котором исследователи используют несколько алгоритмов получения материала из асцита для оценки белкового состава, а также данные протеомного исследования плазмы и мочи больных РЯ. В итоге в составе асцитической жидкости было идентифицировано более 2500 белков и определено 80 устойчиво обнаруживаемых. В общей сложности исследователи предлагают 18 белков, перспективных для дальнейшего изучения [46]. Данные протеины являются представителями различных групп: а) ассоциированные с клеточной пролиферацией, б) связанные с клеточной дифференцировкой и апоптозом, в) участвующие в ремоделировании цитоскелета,

**Таблица 2.** Значение коэффициентов корреляции Спирмена (*R*) между концентрациями IGF-ассоциированных белков в опухоли (*tumor*) и асците (*ascites*)Table 2. The value of the Spearman correlation coefficients (*R*) between the concentrations of IGF-associated proteins in the tumor and ascites

	IGF I <sub>tumor</sub>	IGF II <sub>tumor</sub>	IGFBP-3 <sub>tumor</sub>	IGFBP-4 <sub>tumor</sub>	PAPP-A <sub>tumor</sub>	IGF I <sub>ascites</sub>	IGF II <sub>ascites</sub>	IGFBP-3 <sub>ascites</sub>
IGF I <sub>tumor</sub>			0,387	0,446		0,683	-0,365	0,646
IGF II <sub>tumor</sub>			-0,471					
IGFBP-3 <sub>tumor</sub>	0,387	-0,471		0,394		0,650	-0,469	
IGFBP-4 <sub>tumor</sub>	0,446		0,394		0,356	0,669	-0,687	0,523
PAPP-A <sub>tumor</sub>				0,356		0,676		0,785
IGF I <sub>ascites</sub>	0,683		0,650	0,669	0,676			0,836
IGF II <sub>ascites</sub>	-0,365		-0,469	-0,689				
IGFBP-3 <sub>ascites</sub>	0,636		0,481	0,553	0,785	0,836		
IGFBP-4 <sub>ascites</sub>					0,444			
PAPP-A <sub>ascites</sub>	-0,483							

**Примечание.** IGF – инсулиновый фактор роста, PAPP-A – ассоциированный с беременностью протеин плазмы А. В таблице представлены только статистически значимые коэффициенты с уровнем значимости  $p < 0,05$ .

Note. IGF – insulin growth factor, PAPP-A – pregnancy-associated plasma protein A. Only statistically significant coefficients with significance level  $p < 0.05$  are presented in the table.

г) связанные с клеточной адгезией и подвижностью, а также с транспортом, метаболическими и протеолитическими процессами.

Так, экспрессия выделенного белка S10011A (Calgizzarin), относящегося к группе белков, связанных с клеточной пролиферацией, регулирующей рост клеток путем ингибирования синтеза ДНК, ассоциировалась с агрессивным течением РЯ [47].

Для другой группы белков, связанных с дифференцировкой клеток и апоптозом, представленной глутатион-S-трансферазой-1, кофилином-1 (CFL1), апополипротеином Е, лизоцимом С и митохондриальным белком теплового шока, было отмечено, что увеличение глутатион-S-трансферазы-1 взаимосвязано с химиорезистентностью и неблагоприятным прогнозом; для апополипротеина Е показаны участие в липидном гомеостазе и рост при диссеминированном РЯ, кроме того, его ингибирование приводит к апоптозу на клеточных линиях; белок цитоскелета CFL1 был взаимосвязан с миграцией клеток, агрегацией и дифференцировкой, CFL1 влиял на дифференцировку посредством воздействия на реконструкцию актинового цитоскелета и инвазивные свойства опухоли.

Среди белков, участвующих в ремоделировании цитоскелета, помимо кофилина-1, профилина-1, ARHGDIВ (ингибитор диссоциации гуанозина), IQGAP1 (Ras GTPase-activating-like protein-1/белок активатор ГТФазы 1) и галектина-1, были выделены S100A11, апополипротеин Е и митохондриальный белок теплового шока. Сверхэкспрессия белка IQGAP1, участвующего в перегруппировке цитоскелета путем взаимодействия с различными белками, включая актин,

кальмодулин, CD44, Е-кадгерин, может значительно увеличивать потенциал мигрирующих и инвазивных раковых клеток. Кроме этого, IQGAP1 синтезируется в эндотелиальных клетках и может быть связан с экспрессией VEGFR2, способствуя миграции, пролиферации и ангиогенезу, что, по мнению L. Gortzak-Uzan и соавт., делает его интересным претендентом на маркер предиктивного значения.

В протеомных исследованиях идентифицированы белки, связанные с клеточной адгезией и подвижностью, способные передавать онкогенные сигналы, стимулирующие изменения цитоскелета и подвижности. Часть из них вошли в группу выявленных предикторов: ARHGDIВ, LGALS3BP (галектин-3-связывающий белок), HSPG2 (гепаринсульфат протеогликан базальной мембраны) и профилин-1. По результатам исследований L. Gortzak-Uzan и соавт., сверхэкспрессия профилина-1 прослеживается при РЯ всех стадий и при различной степени дифференцировки.

Группа белков, связанных с транспортом, метаболическими и протеолитическими процессами, представлена церулоплазмином, глюкозо-6-фосфат-изомеразой, пероксиредоксином-6 и катепсином D. По некоторым данным, церулоплазмин и распространение опухоли и метастазирование взаимосвязаны [48]. Его уровень транскрипции при РЯ выше, чем при доброкачественной патологии яичников или норме, а высокий сывороточный уровень коррелирует с опухолевой массой. Обнаружение глюкозо-6-фосфат-изомеразы в данном исследовании, ее присутствие в моче человека и увеличение при РЯ согласуются с данными литературы о взаимосвязи этого фактора с инвазией

и метастазированием [49]. Протеаза катепсин D связана с инвазией, метастазированием, пролиферацией опухолевых клеток, апоптозом и ангиогенезом, а также ассоциирована с плохим клиническим исходом. Данными представленного и ранее опубликованных исследований подтверждено наличие катепсина D у больных РЯ в асците и биологических жидкостях — моче и плазме.

В целом представленное L. Gortzak-Uzan и соавт. исследование, проведенное с целью идентифицировать наиболее надежные маркеры РЯ, показало, что протеомика асцитической жидкости может служить ценным инструментом для изучения механизмов химиорезистентности при РЯ.

Стратегия другого исследования асцитической жидкости, позволившая выделить 51 белок-кандидат в биомаркеры, предполагала использование комплексного протеомного анализа с подтверждением данных на независимых асцитах и образцах сыворотки. В результате было выявлено, что концентрации изоферментов пируваткиназы M1/M2, глицеральдегидфосфатдегидрогеназы и мезотелина были незначительно, но статистически значимо выше в асците у больных РЯ по сравнению с группой пациенток с доброкачественными опухолями яичников [50].

**Экзосомы.** Другой компонент злокачественного асцита представлен внеклеточными везикулами, разновидностью которых являются экзосомы — наноразмерные микропузырьки (диаметром 30–100 нм) эндосомального происхождения. Экзосомы содержат активные молекулы и могут циркулировать по всему организму, потенциально перенося информацию, способную изменять экспрессию генов в других клетках [51]. Ранее было обнаружено, что содержимое экзосом представлено разными специфичными биомаркерами:

опухолевыми супрессорами, фосфопротеинами, протеазами, факторами роста, биоактивными липидами, мутантными онкобелками, онкогенными транскриптами, микроРНК и последовательностями ДНК, включая miR-200c, miR-214, CA125, Muc-1 и CD24 [3, 52].

Экзосомы могут нести информацию о канцерогенезе, риске прогрессирования и прогнозировании выживаемости. Показано, что более высокие уровни CD24 при РЯ указывают на худший прогноз и более низкую выживаемость [53]. Также есть данные о том, что уровни EpCAM и CD24, присутствующие в экзосомах, коррелируют с агрессивностью РЯ [54]. В этом исследовании экзосомы выделялись из асцита больных РЯ и было показано, что цитоплазматическая локализация CD24 наблюдается в опухолях с высоким инвазивным потенциалом.

#### «Большие» и «малые» асциты

Интересные данные, касающиеся изучения профилей генной экспрессии, получены в 2014 г. у 149 пациенток с III–IV стадией High-Grade серозных карцином с большим (>1000 мл) и малым (<200 мл) объемом асцита [55]. У пациенток с малым объемом асцита обнаружено усиление экспрессии генов иммунного ответа по сравнению с пациентками с большим объемом асцита. Данные иммуногистохимического исследования подтвердили более высокую экспрессию белков, кодируемых генами иммунных рецепторов, в случаях с небольшим уровнем асцита, при этом отмечалась более выраженная инфильтрация ткани опухоли иммунными клетками. Так, гиперэкспрессия CD74 (кластер дифференцировки 74), HLA-DR (человеческий лейкоцитарный антиген DR) и TAP-2 (транспортер, ассоциированный с процессингом антигенов 2) во флолирующих опухолевых клетках чаще наблюдалась

**Таблица 3.** Уровни IGFs, IGFBPs и PAPP-A (нг/мг белка) в асците у больных с диссеминированными формами рака яичников в зависимости от его объема, Me (25–75 %)

**Table 3.** The levels of IGFs, IGFBPs and PAPP-A (ng/mg protein) in ascites in patients with disseminated ovarian cancer, depending on its volume, Me (25–75 %)

Объем асцита Ascites volume	IGF I	IGF II	IGFBP-3	IGFBP-4	PAPP-A
Малый (<200 мл) (n = 10) Small (<200 ml) (n = 10)	1,92 (1,66–2,26)	193 (55,0–378)	96,9 (88,2–166)	5,96 (3,63–12,4)	0,045 (0–0,120)
Умеренный (n = 12) Moderate (n = 12)	3,95 (0,50–9,50)	165 (84,0–281)	268 (100–404)	3,65 (0,60–5,60)	0,370 (0,130–0,495)
Выраженный (n = 33) Severe (n = 33)	3,00 (1,32–5,00)	67,3 (28,7–124) $p_{1,3} < 0,05$ $p_{2,3} < 0,05$	210 (140–266)	62,3 (51,4–77,8)	0,310 (0,145–0,550) $p_{1,3} < 0,05$ $p_{1,2} < 0,05$

**Примечание.**  $p_{1,2}$  — разница между уровнем белков в образцах со следовыми количествами асцита и умеренным асцитом;  $p_{1,3}$  — разница между уровнем белков в образцах со следовыми количествами асцита и выраженным асцитом;  $p_{2,3}$  — разница между уровнем белков в образцах с умеренным и выраженным асцитом.

**Note.**  $p_{1,2}$  — the difference between the level of proteins in samples with trace amounts of ascites and moderate ascites;  $p_{1,3}$  — the difference between the level of proteins in samples with trace amounts of ascites and marked ascites;  $p_{2,3}$  — the difference between the level of proteins in samples with moderate and severe ascites.

**Таблица 4.** Данные экспрессии CD74, HLA-DR и TAP-2 в опухолевых клетках при раке яичников со значительным и невыраженным объемами асцитами

**Table 4.** Data on the expression of CD74, HLA-DR and TAP-2 in tumor cells in ovarian cancer with significant and unexpressed bulk ascites

Параметр Parameter	Интенсивность окрашивания Staining intensity	Большой объем асцита ( $n = 25$ ), $n$ (%) High-volume ascites ( $n = 25$ ), $n$ (%)	Малый объем асцита ( $n = 26$ ), $n$ (%) Low-volume ascites ( $n = 26$ ), $n$ (%)	Критерий Вилкоксона $p$ Wilcoxon $p$ value
CD-74	0	5 (20)	1 (3,8)	0,046
	1	7 (28)	5 (19,2)	
	2	13 (52)	20 (76,9)	
HLA-DR	0	9 (36)	3 (11,5)	0,006
	1	9 (36)	6 (23,1)	
	2	7 (28)	17 (65,4)	
TAP-2	1	21 (84)	11 (42,3)	0,002
	2	4 (16)	15 (57,7)	

**Примечание.** CD-74 – кластер дифференцировки 74, HLA-DR – человеческий лейкоцитарный антиген DR; TAP-2 – транспортер, ассоциированный с процессингом антигенов 2. Оценка исследуемых параметров проводилась иммуногистохимически [56].

**Note.** CD-74 – differentiation cluster 74, HLA-DR – human leukocyte DR antigen; TAP-2 – a transporter associated with antigen processing-2.

The evaluation of the parameters studied was carried out immunohistochemically [56].

у пациенток с невыраженным асцитом ( $p = 0,046$ ;  $0,006$  и  $0,002$  соответственно; табл. 4).

Также отмечено, что меньший объем асцита коррелирует с лучшим хирургическим результатом и более продолжительной общей выживаемостью. Таким образом, авторы рассматривают карциномы яичников с небольшим количеством асцита как более благоприятную подгруппу, характеризующуюся усиленным иммунореактивным фенотипом и лучшим клиническим исходом. Результаты также позволили авторам предполагать, что количество асцита может определять целесообразность назначения адьювантной иммунотерапии, что, однако, требует дальнейшего изучения [55].

#### **Ангиогенные факторы в асците. Перспективы развития антиангиогенной терапии при раке яичников**

Особую актуальность имеет направление по изучению ангиогенеза при РЯ. Бевацизумаб является наиболее исследованным таргетным препаратом при РЯ, хотя не единственным (ингибиторы тирозинкиназных доменов рецепторов к сосудистому эндотелиальному тромбоцитарному фактору роста, фактору роста фибробластов, а также ингибиторы ангиопоэтина 1, 2).

Известно, что на ранних этапах канцерогенеза VEGF и его рецепторы являются основными драйверами ангиогенеза в опухоли, но в процессе опухолевой прогрессии присоединяются другие пути, ведущие впоследствии к развитию резистентности к бевацизумабу [56]. В настоящее время подход к антиангиогенной терапии заключается в ингибировании не одного эндотелиального фактора (как в случае бевацизумаба), а двух и более сигнальных путей, задействованных в этом процессе. Известно также, что наличие асцита может быть предиктором большей эффективности терапии бевацизумабом [57]. В исследовании S.P. Trachana и соавт. 2016 г. для изучения факторов ангиогенеза использо-

вали асцитическую жидкость больных с диссеминированными формами низкодифференцированных карцином яичников. Авторы предположили, что разработка «ангиогенной сигнатуры» могла бы предсказать прогноз и эффективность антиангиогенной терапии [22]. Клинический материал был представлен 79 образцами асцитической жидкости, полученными от 35 больных с платиночувствительным и 36 пациентов с платинорезистентным течением. В анализ включили 55 параметров, связанных с ангиогенезом. Забор асцита проводили до начала терапии, результаты анализировали постфактум, в результате чего было отобрано 25 факторов, отличавшихся по уровню своей экспрессии, предиктивная значимость которых превышала значение клинических параметров, включая стадию, гистотип, объем остаточной опухоли после циторедуктивной операции и уровень VEGF в асцитической жидкости. Попытки сократить количество параметров с использованием ELISA (иммуноферментного анализа) и математического моделирования привели к выделению 5 факторов, обладающих наибольшими различиями в экспрессии в химиорезистентной и химиочувствительной группах (FGF acidic, FGF basic, HB-EGF, PDGF-AB/PDGF-BB, тромбоспондин 2). Однако если прогностическое значение модели с учетом 25 параметров приближается к 90 %, то использование только 5 указанных факторов значительно снижает возможность прогнозировать химиорезистентность. Полученные результаты могут учитываться при планировании клинических исследований [22].

Значительные усилия прилагаются для поиска путей прогнозирования эффекта назначения ингибитора ангиогенеза бевацизумаба путем внедрения субклассифицирования карцином в клиническую практику [58, 59]. В исследовании ICON7 пациентки распределены на 4 группы: иммунореактивный ( $n = 122$ , 34 %),

пролиферативный ( $n = 96$ , 27 %), дифференцированный ( $n = 73$ , 20 %) и мезенхимальный ( $n = 68$ , 19 %) подтипы. Оказалось, что пациентки с опухолями пролиферативного подтипа получили наибольшую пользу от назначения бевацизумаба в адьювантном и поддерживающем режимах (до 12 мес после выполнения первичной циторедукции): отмечено улучшение медианы безрецидивной выживаемости на 10,1 мес. У больных с мезенхимальным подтипом было статистически незначимое улучшение безрецидивной выживаемости на 8,2 мес. В группе пациенток с иммунореактивным подтипом безрецидивной выживаемости – выше на 3,8 мес ( $p = 0,08$ ), как и в группе с дифференцированным подтипом (3,7 мес;  $p = 0,61$ ). Данные многофакторного анализа подтвердили значительное улучшение безрецидивной выживаемости в группе с пролиферативным подтипом ( $p = 0,0015$ ).

Полученные данные свидетельствуют о том, что молекулярные подтипы с худшими показателями выживаемости (пролиферативный и мезенхимальный) получают наибольшую выгоду от лечения, включающего бевацизумаб [59].

Другой анализ включал оценку экспрессии 63 генов и позволил выделить 3 группы опухолей: с гиперэкспрессией ангиогенных генов, со сниженной экспрессией ангиогенных генов и с гиперэкспрессией генов иммунного ответа [60]. Оказалось, что в ангиогенной группе отмечена незначительная тенденция к увеличению безрецидивной выживаемости при добавлении бевацизумаба (17,4 мес против 12,3 мес только с химиотерапией). В иммунной группе (41 % случаев), изначально имеющей более высокие показатели выживаемости по сравнению с двумя другими подгруппами, добавление бевацизумаба приводило даже к ухудшению показателей выживаемости по сравнению с таковыми у больных, получавших только химиотерапию [58].

Ожидается, что общее согласие относительно того, как определять молекулярные подгруппы, облегчит использование данных экспрессии в планировании клинических исследований и терапии в целом. Идентификация опухолей «определенного» подтипа является важным шагом к выделению перспективных терапевтических фенотипов [60].

#### **Составляющие асцита как изменяющиеся параметры.**

При изучении параметров генной экспрессии опухолевых клеток асцитической жидкости до лечения и при появлении признаков прогрессирования было выявлено, что, с одной стороны, в резистентных опухолевых клетках асцита обнаруживается сдвиг глюкозозависимой митохондриальной функции в виде усиления экспрессии GLDC, ACC, ASNS, FDFT1, UGDH, PYCR2 и т. д. для биосинтеза вторичных метаболитов, таких как глицин/серин, жирные кислоты, аспартат, холестерин, гиалуроновая кислота, пролин, что может быть связано с обеспечением выживания свободно флотирующих и находящихся в условиях гентоксического стресса химиорезистентных опухолевых клеток,

так как в настоящее время нет сомнений, что трансформации на уровне энергообеспечения позволяют раковым клеткам выживать в условиях гипоксии, а высокий уровень липогенеза в опухолях за счет повышенного обмена глюкозы, глутамин и ацетата независимо от уровня внеклеточных липидов поддерживает агрессивный рост опухолей, усиление активности компонентов пентозофосфатного пути позволяет синтезировать нуклеиновые кислоты на высокой скорости, что в итоге необходимо как для синтеза жирных кислот, так и для выживаемости клеток в условиях окислительного стресса.

С другой стороны, выявлено сопутствующее обогащение белками, связанными с репарацией ДНК (MSH6, TOP2A, CDKN2A, AURKA, AURKB), а также ABCC4 (ATP-binding cassette sub-family C member 4), известного как MRP 4 (протеин множественной лекарственной резистентности 4), что в целом согласуется с химиорезистентным фенотипом этих клеток [61].

Также выявлены изменения в системе иммунного надзора, различавшиеся в асците первичных больных РЯ (MSH, класс I, адаптивные иммунные молекулы) и в асците химиорезистентных больных (MSH, класс II, адаптивные иммунные молекулы). Что касается экспрессии генов, белковый продукт которых отвечает за гемидесмосомы и клеточную адгезию, подобных белкам семейства плакина (PPL, EVPL, Epiplakin, Plectin и т. д.), то в случае химиорезистентного фенотипа она была снижена, что согласуется с флотирующим состоянием данных клеток.

В итоге у больных РЯ до лечения отмечено повышение содержания белков, отвечающих за иммунный надзор (HLA-B, IDO1, kynureninase и Ly-75), белков, отвечающих за цитоскелет и клеточную адгезию (EVPL, Plectin, Perioplakin, EPPK1, CIB-1, ITGB8 и SPTA1) и апоптоз – ANXA9. В химиорезистентных опухолевых клетках наблюдали 2–19-кратное превышение содержания иммунных белков (HLA-DRB1), белков, отвечающих за резистентность к химиотерапии (MSH6, CDKN2A, AURKA, AURKB, TOP2A и ABCC4), белков-онкогенов (MTA1, MIF, DJ-1, Agrin, FDFT1), белков, влияющих на липидный профиль и синтез липидов (PP2A, ACACA, ASNS, UGDH), экстрацеллюлярный матрикс (COL12A, LAMA5, ADAMTS-1), пролиферативных агентов (STAT3, PCNA), а также факторов воспаления (CRP, HP, A2M) [61].

В целом по результатам проведенного анализа литературы наибольшую перспективность для дальнейших исследований в плане прогнозирования течения РЯ имеет ряд интерлейкинов (IL-6, -10, -17a и 21), ростовых факторов (VEGF-A, TNF- $\alpha$ ), простагландин E2, параметры системы IFR (IGF I, IGF II и IGFBP-3), протеаза, ассоциированная с беременностью PAPP-A, гликолитический фермент гексокиназа II и глутатион-S-трансфераза-1, белок цитоскелета CFL1 и другие белки клеточной подвижности, протеаза катепсин D, иммунные белки (HLA-DRB1), белки, отвечающие за

резистентность к химиотерапии (MSH6, CDKN2A, AURKA, AURKB, TOP2A и ABCC4), некоторые белки-онкогены, белки, влияющие на синтез липидов и экстрацеллюлярного матрикса, пролиферативные агенты (STAT3, PCNA), факторы воспаления (CRP, HP, A2M). Отдельный интерес представляют экзосомы (содержащие CD24 и EpCAM), а также параметры системы ангиогенеза (VEGF-A, VEGF-C и VEGFR3), хотя попытка создания эффективной «ангиогенной сигнатуры» пока не признана успешной. Эти факторы в совокупности способствуют созданию провоспалительного и иммуносупрессивного микроокружения опухоли.

### Заключение

Таким образом, карциномы яичника представляют собой пока недостаточно четко охарактеризованную группу бурно прогрессирующих опухолей, отличающихся выраженной гетерогенностью, отсутствием специфических маркеров химиорезистентности. При этом асцит является привлекательной биологической жидкостью для обнаружения биомаркеров, поскольку получение его требует несложных малоинвазивных манипуляций. Данный обзор посвящен последним достижениям в понимании молекулярных, клеточных и функциональных изменений, касающихся компонентов асцитической жидкости, с целью поиска взаимосвязи с химиорезистентностью.

Асцитическая жидкость, находящаяся в непосредственной близости с опухолью, может отражать события канцерогенеза раньше, чем периферическая кровь: концентрация ряда метаболитов обычно значительно выше в асците по сравнению с сывороткой, и в некотором смысле состав асцита является уникальным. Гетерогенная смесь клеточного компонента асцита определяет состав бесклеточного, а бесклеточный компонент представляет собой динамический резервуар проонкогенных и антионкогенных факторов, включая

цитокины, факторы роста, биоактивные липиды, белки, метаболиты, экзосомы, которые по отдельности и в сочетании влияют на поведение карциномы и особенности прогрессирования. Асцит инициируется и поддерживается за счет физических и биологических изменений, обусловленных основным заболеванием, и образует систему, способствующую прогрессированию болезни: большое количество факторов, формирующих среду опухолевых клеток, обеспечивает их пролиферацию и подвижность, регулирует поведение клеток, способствуя гетерогенности опухоли, и различную эффективность химиотерапии.

Представляя собой значительную клиническую проблему, асцит при РЯ открывает широкие возможности в его изучении. Благодаря доступности асцитической жидкости становится отличным объектом для исследования механизмов опухолевой прогрессии, поиска прогностических маркеров, изучения молекулярного профиля. Решение проблемы асцита при РЯ напрямую связано с перспективой появления новых возможностей для терапии диссеминированного РЯ.

Представленные собственные данные свидетельствуют о значимости изучения параметров системы IFR в асцитической жидкости, указывают на множественные взаимосвязи между уровнями IGFs в асците и уровнями IGF и IGFbPs в опухоли. Кроме этого, уровень белков системы IGF существенно зависит от объема асцитической жидкости, что согласуется с представлениями о различном молекулярном профиле низкодифференцированных серозных аденокарцином с малым (<200 мл) и большим (>1000 мл) объемом асцита.

Каждая из имеющихся составляющих асцита может представлять отдельный интерес для исследований. Ключевое результирующее подобных исследований может открыть перед нами возможность новых вариантов как диагностики, так и лечения РЯ.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tan D.S., Agarwal R., Kaye S.B. Mechanisms of transcoelomic metastasis in ovarian cancer. *Lancet Oncol* 2006;7(11):925–34. DOI: 10.1016/S1470-2045(06)70939-1.
2. Ahmed N., Stenvers K.L. Getting to know ovarian cancer ascites: opportunities for targeted therapy-based translational research. *Front Oncol* 2013;3:256. DOI: 10.3389/fonc.2013.00256.
3. Guo L., Guo N. Exosomes: potent regulators of tumor malignancy and potential bio-tools in clinical application. *Crit Rev Oncol Hematol* 2015;95(3):346–58. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2015.04.002.
4. Matte I., Lane D., Laplante C. et al. Profiling of cytokines in human epithelial ovarian cancer ascites. *Am J Cancer Res* 2012;2(5):566–80.
5. Lane D., Matte I., Rancourt C., Piché A. Prognostic significance of IL-6 and IL-8 ascites levels in ovarian cancer patients. *BMC Cancer* 2011;11:210. DOI: 10.1186/1471-2407-11-210.
6. Yigit R., Figdor C.G., Zusterzeel P.L. et al. Cytokine analysis as a tool to understand tumour – host interaction in ovarian cancer. *Eur J Cancer* 2011;47:1883–9. DOI: 10.1016/j.ejca.2011.03.026.
7. Giuntoli R.L., Webb T.J., Zoso A. et al. Ovarian cancer-associated ascites demonstrates altered immune environment: implications for antitumor immunity. *Anticancer Res* 2009;29(8):2875–84.
8. Lane D., Matte I., Garde-Granger P. et al. Inflammation-regulating factors in ascites as predictive biomarkers of drug resistance and progression-free survival in serous epithelial ovarian cancers. *BMC Cancer* 2015;15:492. DOI: 10.1186/s12885-015-1511-7
9. Kolomeyevskaya N., Eng K.H., Khan A.N. et al. Cytokine profiling of ascites at primary surgery identifies an interaction of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 in predicting reduced progression-free survival in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2015;138(2):352–7. DOI: 10.1016/j.ygyno.2015.05.009.
10. Huang H., Li Y., Liu J. et al. Screening and identification of biomarkers in ascites

- related to intrinsic chemoresistance of serous epithelial ovarian cancers. *PLoS One* 2012;7(12):e51256. DOI: 10.1371/journal.pone.0051256.
11. McMillan A., Rulisa S., Sumarah M. et al. A multi-platform metabolomics approach identifies highly specific biomarkers of bacterial diversity in the vagina of pregnant and non-pregnant women. *Sci Rep* 2015;5:14174. DOI: 10.1038/srep14174.
  12. Finley L.W., Carracedo A., Lee J. et al. SIRT3 opposes reprogramming of cancer cell metabolism through HIF1 $\alpha$  destabilization. *Cancer Cell* 2011;19(3):416–28. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.02.014.
  13. Chung H.H., Kwon H.W., Kang K.W. et al. Preoperative [F]FDG PET/CT predicts recurrence in patients with epithelial ovarian cancer. *J Gynecol Oncol* 2012;23(1):28–34. DOI: 10.3802/jgo.2012.23.1.28.
  14. Gwak H., Haegeman G., Tsang B.K., Song Y.S. Cancer-specific interruption of glucose metabolism by resveratrol is mediated through inhibition of Akt/GLUT1 axis in ovarian cancer cells. *Mol Carcinog* 2015;54(12):1529–40. DOI: 10.1002/mc.22227.
  15. Carvalho K.C., Cunha I.W., Rocha R.M. et al. GLUT1 expression in malignant tumors and its use as an immunodiagnostic marker. *Clinics (Sao Paulo)* 2011;66(6):965–72. DOI: 10.1590/s1807-59322011000600008.
  16. Suh D.H., Kim M.A., Kim H. et al. Association of overexpression of hexokinase II with chemoresistance in epithelial ovarian cancer. *Clin Exp Med* 2014;14:345–53. DOI: 10.1007/s10238-013-0250-9.
  17. Eikawa S., Nishida M., Mizukami S. et al. Immune-mediated antitumor effect by type 2 diabetes drug, metformin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112(6):1809–14. DOI: 10.1073/pnas.1417636112.
  18. Buckanovich R.J., Brown J., Shank J. et al. A phase II clinical trial of metformin as a cancer stem cell targeting agent in stage IIc/III/IV ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer. *J Clin Oncology* 2017;35(Suppl 15):5556. DOI: 10.1200/JCO.2017.35.15\_suppl.5556.
  19. Chae Y.K., Arya A., Malecek M.K. et al. Repurposing metformin for cancer treatment: current clinical studies. *Oncotarget* 2016;7(26):40767–80. DOI: 10.18632/oncotarget.8194.
  20. Shender V.O., Pavlyukov M.S., Ziganshin R.H. et al. Proteome-metabolome profiling of ovarian cancer ascites reveals novel components involved in intercellular communication. *Mol Cell Proteomics* 2014;13(12):3558–71. DOI: 10.1074/mcp.M114.041194.
  21. Hartmann D., Lucks J., Fuchs S. et al. Long chain ceramides and very long chain ceramides have opposite effects on human breast and colon cancer cell growth. *Int J Biochem Cell Biol* 2012;44(4):620–8. DOI: 10.1016/j.biocel.2011.12.019.
  22. Trachana S.P., Pilalis E., Gavalas N.G. et al. The development of an angiogenic protein “signature” in ovarian cancer ascites as a tool for biologic and prognostic profiling. *PLoS One* 2016;11(6):e0156403. DOI: 10.1371/journal.pone.0156403.
  23. Герштейн Е.С., Исаева Э.П., Огнерубов Н.А. Компоненты системы инсулиноподобных факторов роста как факторы прогноза и мишени молекулярно-направленной терапии рака яичников. *Вестник Тамбовского университета* 2014;19(1):42–5. [Gershteyn E.S., Isayeva E.R., Ognerubov N.A. Insulin-like growth factor system components as prognostic factors and targets for molecular specific therapy in ovarian cancer. *Vestnik Tambovskogo universiteta = Tambov University Reports* 2014;19(1):42–5. (In Russ.)].
  24. Firth S.M., Baxter R.C. Cellular actions of the insulin-like growth factor binding proteins. *Endocr Rev* 2002;23:824–54. DOI: 10.1210/er.2001-0033.
  25. Lane D., Matte I., Garde-Granger P. et al. Ascites IL-10 promotes ovarian cancer cell migration. *Cancer Microenviron* 2018;11(2, 3):115–24. DOI: 10.1007/s12307-018-0215-3.
  26. Lamichhane P., Karyampudi L., Shreeder B. et al. IL-10 release upon PD-1 blockade sustains immunosuppression in ovarian cancer. *Cancer Res* 2017;77(23):6667–78. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-0740.
  27. Dalal V., Kumar R., Kumar S. et al. Biomarker potential of IL-6 and VEGF-A in ascitic fluid of epithelial ovarian cancer patients. *Clin Chim Acta* 2018;482:27–32. DOI: 10.1016/j.cca.2018.03.019.
  28. Cantón-Romero J.C., Miranda-Díaz A.G., Bañuelos-Ramírez J.L. et al. Markers of oxidative stress and inflammation in ascites and plasma in patients with platinum-sensitive, platinum-resistant, and platinum-refractory epithelial ovarian cancer. *Oxid Med Cell Longev* 2017;2017:2873030. DOI: 10.1155/2017/2873030.
  29. Kim S., Gwak H., Kim H.S. et al. Malignant ascites enhances migratory and invasive properties of ovarian cancer cells with membrane bound IL-6R *in vitro*. *Oncotarget* 2016;7(50):83148–59. DOI: 10.18632/oncotarget.13074.
  30. Brencicova E., Jagger A.L., Evans H.G. et al. Interleukin-10 and prostaglandin E2 have complementary but distinct suppressive effects on Toll-like receptor-mediated dendritic cell activation in ovarian carcinoma. *PLoS One* 2017;12(4):e0175712. DOI: 10.1371/journal.pone.0175712.
  31. Wang X., Zhu Q., Lin Y. et al. Crosstalk between TEMs and endothelial cells modulates angiogenesis and metastasis via IGF1-IGF1R signalling in epithelial ovarian cancer. *Br J Cancer* 2017;117(9):1371–82. DOI: 10.1038/bjc.2017.297.
  32. Tuppurainen L., Sallinen H., Karvonen A. et al. Combined gene therapy using AdsVEGFR2 and AdsTie2 with chemotherapy reduces the growth of human ovarian cancer and formation of ascites in mice. *Int J Gynecol Cancer* 2017;27(5):879–86. DOI: 10.1097/IGC.0000000000000973.
  33. Bekes I., Friedl T.W., Köhler T. et al. Does VEGF facilitate local tumor growth and spread into the abdominal cavity by suppressing endothelial cell adhesion, thus increasing vascular peritoneal permeability followed by ascites production in ovarian cancer? *Mol Cancer* 2016;15:13. DOI: 10.1186/s12943-016-0497-3.
  34. Zhan N., Dong W.G., Wang J. The clinical significance of vascular endothelial growth factor in malignant ascites. *Tumour Biol* 2016;37(3):3719–25. DOI: 10.1007/s13277-015-4198-0.
  35. Zhao H., Li X., Chen D. et al. Intraperitoneal administration of cisplatin plus bevacizumab for the management of malignant ascites in ovarian epithelial cancer: results of a phase III clinical trial. *Med Oncol* 2015;32(2):292. DOI: 10.1007/s12032-014-0292-1.
  36. Gawrychowski K., Szewczyk G., Skopińska-Różewska E. et al. The angiogenic activity of ascites in the course of ovarian cancer as a marker of disease progression. *Dis Markers* 2014;2014(683757). DOI: 10.1155/2014/683757.
  37. Decio A., Tarabozetti G., Patton V. et al. Vascular endothelial growth factor c promotes ovarian carcinoma progression through paracrine and autocrine mechanisms. *Am J Pathol* 2014;184(4):1050–61. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.12.030.
  38. Chen Y.L., Chou C.Y., Chang M.C. et al. IL17a and IL21 combined with surgical status predict the outcome of ovarian cancer patients. *Endocr Relat Cancer* 2015;22(5):703–11. DOI: 10.1530/ERC-15-0145.
  39. Tang M., Liu B., Bu X., Zhao P. Cross-talk between ovarian cancer cells and macrophages through periostin promotes macrophage recruitment. *Cancer Sci* 2018;109(5):1309–18. DOI: 10.1111/cas.13567.
  40. Yunusova N.V., Villert A.B., Spirina L.V. Insulin-like growth factors and their binding proteins in tumors and ascites of ovarian cancer patients: association with response to neoadjuvant chemotherapy. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016;17(12):5315–20. DOI: 10.22034/APJCP.2016.17.12.5315.

41. Huang C.T., Chang M.C., Chen Y.L. et al. Insulin-like growth factors inhibit dendritic cell-mediated anti-tumor immunity through regulating ERK1/2 phosphorylation and p38 dephosphorylation. *Cancer Lett* 2015;359(1):117–26. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.01.007.
42. Thomsen J., Hjortebjerg R., Espelund U. et al. PAPP-A proteolytic activity enhances IGF bioactivity in ascites from women with ovarian carcinoma. *Oncotarget* 2015;6(31):32266–78. DOI: 10.18632/oncotarget.5010.
43. Rafahi S., Ramos Valdes Y., Bertrand M. et al. TGF $\beta$  signaling regulates epithelial-mesenchymal plasticity in ovarian cancer ascites-derived spheroids. *Endocr Relat Cancer* 2016;23(3):147–59. DOI: 10.1530/ERC-15-0383.
44. Spirina L.V., Bochkareva N.V., Kondakova I.V. et al. Regulation of insulin-like growth NF- $\kappa$ B proteasome system in endometrial cancer. *Mol Biol* 2012;46(3):407–13. DOI: 10.1134/S0026893312020173.
45. Slipicevic A., Øy G.F., Askildt I.C. et al. Diagnostic and prognostic role of the insulin growth factor pathway members insulin-like growth factor-II and insulin-like growth factor binding protein-3 in serous effusions. *Hum Pathol* 2009;40(4):527–37. DOI: 10.1016/j.humpath.2008.10.003.
46. Gortzak-Uzan L., Ignatchenko A., Evangelou A.I. et al. A proteome resource of ovarian cancer ascites: integrated proteomic and bioinformatic analyses to identify putative biomarkers. *J Proteome Res* 2008;7:339–51. DOI: 10.1021/pr0703223.
47. Kikuchi N., Horiuchi A., Osada R. et al. Nuclear expression of S100A4 is associated with aggressive behavior of epithelial ovarian carcinoma: An important autocrine/paracrine factor in tumor progression. *Cancer Sci* 2006;97(10):1061–9. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2006.00295.x.
48. Kluger H.M., Kluger Y., Gilmore-Hebert M. et al. CDNA microarray analysis of invasive and tumorigenic phenotypes in a breast cancer model. *Lab Invest* 2004;84(3):320–31. DOI: 10.1038/labinvest.3700044.
49. Haga A. A possibility that AMF will serve as a target molecule for the diagnosis and treatment of a metastatic neoplasm. *Yakugaku Zasshi* 2005;25(2):169–75. DOI: <https://doi.org/10.1248/yakushi.125.169>.
50. Elschenbroich S., Ignatchenko V., Clarke B. et al. In-depth proteomics of ovarian cancer ascites: combining shotgun proteomics and selected reaction monitoring mass spectrometry. *J Proteome Res* 2011;10(5):2286–99. DOI: 10.1021/pr1011087.
51. Valadi H., Ekström K., Bossios A. et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* 2007;9(6):654–9. DOI: 10.1038/ncb1596.
52. Taylor D.D., Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2008;110(1):13–21. DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.04.033.
53. Aktaş I.Y., Buğdayci M., Usubütün A. Expression of p16, p53, CD24, EpCAM and calretinin in serous borderline tumors of the ovary. *Turk Patoloji Derg* 2012;28(3):220–30. DOI: 10.5146/tjpath.2012.01128.
54. Runz S., Keller S., Rupp C. et al. Malignant ascites-derived exosomes of ovarian carcinoma patients contain CD24 and EpCAM. *Gynecol Oncol* 2007;107(3):563–71. DOI: 10.1016/j.ygyno.2007.08.064.
55. Feigenberg T., Clarke B., Virtanen C. et al. Molecular profiling and clinical outcome of high-grade serous ovarian cancer presenting with low-versus high-volume ascites. *Bio Med Research International* 2014;(11):367103. DOI: 10.1155/2014/367103.
56. Keith B., Simon M. Tumor angiogenesis. In: *The Molecular Basis of Cancer*. 3<sup>rd</sup> Edn. Eds.: J. Mendelsohn, J.W. Gray. Elsevier, 2008. Pp. 241–251.
57. Ferriss J.S., Java J.J., Bookman M.A. et al. Ascites predicts treatment benefit of bevacizumab in front-line therapy of advanced epithelial ovarian, fallopian tube and peritoneal cancers: an NRG Oncology/GOG study. *Gynecol Oncol* 2015;139:17–22. DOI: 10.1016/j.ygyno.2015.07.103.
58. Gourley C., McCavigan A., Perren T. et al. Molecular subgroup of high-grade serous ovarian cancer (HGSO) as a predictor of outcome following bevacizumab. *J Clin Oncol* 2014;32(Suppl.15):5502. DOI: 10.1200/jco.2014.32.15\_suppl.5502.
59. Helland Å., Anglesio M.S., George J. et al. Deregulation of MYCN, LIN28B and LET7 in a molecular subtype of aggressive high-grade serous ovarian cancers. *PLoS One* 2011;6(4):e18064. DOI: 10.1371/journal.pone.0018064.
60. Chen G.M., Kannan L., Geistlinger L. et al. Consensus on molecular subtypes of ovarian cancer. *BioRxiv* 2017;162685. DOI: 10.1101/162685.
61. Ahmed N., Thompson E.W., Quinn M.A. Epithelial-mesenchymal interconversions in normal ovarian surface epithelium and ovarian carcinomas: an exception to the norm. *J Cell Physiol* 2007;213(3):581–8. DOI: 10.1002/jcp.21240.

#### Вклад авторов

А.Б. Виллерт: обзор публикаций по теме статьи, получение данных для собственного анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи;

Л.А. Коломиец: разработка дизайна научного направления и исследования;

Н.В. Юнусова: получение данных для собственного анализа, анализ полученных данных.

#### Authors' contributions

A.B. Villert: reviewing of publications of the article's theme, obtaining data for own analysis, analysis of the obtained data, article writing;

L.A. Kolomiets: development of research design and research;

N.V. Yunusova: obtaining data for own analysis, analysis of the obtained data.

#### ORCID авторов/ORCID of authors

А.Б. Виллерт/A.B. Villert: <https://orcid.org/0000-0002-2773-1917>

Л.А. Коломиец/L.A. Kolomiets: <https://orcid.org/0000-0002-6854-8940>

Н.В. Юнусова/N.V. Yunusova: <https://orcid.org/0000-0003-4595-4177>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Financing.** The study was performed without external funding.

**Статья поступила:** 20.02.2019. **Принята к публикации:** 17.06.2019.

**Article received:** 20.02.2019. **Accepted for publication:** 17.06.2019.