

Udział stresu oksydacyjnego w rozwoju raka jajnika

The role of oxidative stress in the pathogenesis of ovarian cancer

© GinPolMedProject 1 (27) 2013

Artykuł poglądowy/Review article

NATALIA SŁOWIK-WASYLUK¹, GRZEGORZ POLAK², IWONA WERTEL²,
TOMASZ WASYLUK¹, WIEŚŁAWA BEDNAREK²

¹ Lekarz rezydent

² I Katedra i Klinika Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii UM w Lublinie
Kierownik: prof. zw. dr hab. n. med. Jan Kotarski

Adres do korespondencji/Address for correspondence:

Katedra i Klinika Ginekologii Onkologicznej i Ginekologii UM w Lublinie
ul. Staszica 16, Lublin

tel. 81 5327 847, fax: 81 53-206-08, e-mail: ginonkol@umlub.pl

Statystyka/Statistic

Liczba słów/Word count 2332/2544

Tabele/Tables 0

Ryciny/Figures 0

Piśmiennictwo/References 17

Received: 04.02.2013

Accepted: 05.03.2013

Published: 13.03.2013

Summary

Oxidative stress is a state of deregulation of oxidative balance towards oxidative processes. Increased oxidants production influences metabolism, apoptosis and cell senescence. Moreover it may initiate carcinogenesis.

The aim of the study was to assess the role of oxidative stress in carcinogenesis and development of ovarian cancer on the base of literature from the last 5 years and to describe the potential possibility to use these processes in the treatment of cancer. We have presented some markers of cell oxidative damage that might be involved in ovarian carcinogenesis. In addition, we analyzed antioxidative status of cancer cells by comparison of various antioxidants and antioxidant enzymes concentration that may contribute to restoration of oxidation balance in the cells as well as to DNA repair after oxidative stress. Given that ovarian cancer and endometriosis have common features and endometriosis is probably involved in the development of some ovarian cancers we decided to compare oxidative stress intensity in these conditions. Although many processes observed during ovarian carcinogenesis are still unclear and require further elucidation, there is evidence confirming the role of oxidative stress in ovarian carcinogenesis. However, the diversity of ovarian cancer limits and hampers the possibility to unify screening and therapy of these malignancies.

Key words: ovarian cancer, oxidative stress.

Streszczenie

Mianem stresu oksydacyjnego określa się zaburzenie równowagi oksydoredukcyjnej w kierunku procesu utleniania. Nadmierne nasilenie procesów wolnorodnikowych wpływa na metabolizm, apoptozę i starzenie się komórek, a także może inicjować karcynogenezę.

Celem pracy była próba oceny udziału stresu oksydacyjnego w karcynogenezie i rozwoju raka jajnika oraz możliwości wykorzystania tych zjawisk w terapii raka na podstawie dostępnego piśmiennictwa z ostatnich 5 lat. Zaprezentowano kilka substancji, będących markerami uszkodzenia oksydacyjnego komórek, które mogą mieć wpływ na karcynogenezę w jajniku. Podjęto także próbę określenia stanu antyoksydacyjnego komórek nowotworowych porównując koncentrację niektórych antyoksydantów i enzymów antyoksydacyjnych, które mogą przyczyniać się do przywrócenia równowagi w komórkach oraz naprawy uszkodzeń DNA powstałych na skutek nasilenia stresu oksydacyjnego. Ze względu na wspólne cechy raka jajnika i endometriozy oraz prawdopodobny udział endometriozy w powstawaniu niektórych nowotworów jajnika dokonano porównania nasilenia stresu oksydacyjnego w w/w schorzeniach. Pomimo, iż wiele procesów zachodzących podczas karcynogenezy w jajniku pozostaje nadal niejasnych i wciąż potrzebnych jest więcej badań dla ich wyjaśnienia, istnieją dowody potwierdzające udział stresu oksydacyjnego w karcynogenezie w jajniku, jednak różnorodność raka jajnika ogranicza i utrudnia możliwości ujednoczenia skriningu i terapii tych nowotworów.

Słowa kluczowe: rak jajnika; stres oksydacyjny

WSTĘP

Etiopatogeneza raka jajnika nie jest w pełni wyjaśniona. Jedną z hipotez tłumaczących rozwój tego nowotworu jest teoria tzw. „nieustającej owulacji” Fathalla, która uwzględnia stan zapalny, jako czynnik ryzyka karcynogenezy. Hipoteza ta przyjmuje, że uszkodzenie komórek nabłonka pokrywającego jajnik jest następstwem reakcji zapalnej związanej ze zwiększoną produkcją mediatorów zapalenia i wolnych rodników podczas owulacji. Stan ten skutkuje zaburzeniami w naprawie struktury jajników, a tym samym przyczynić się może do rozwoju zmian nowotworowych [1,2]. Wywołany owulacją stan zapalny może promować angiogenezę, proliferację komórek, hamować apoptozę, a także pobudzać produkcję wolnych rodników, powodujących uszkodzenia i mutacje DNA [3].

PROCESY OKSYDACJI

Procesy oksydacji są szeroko badane zarówno w chorobach nienowotworowych takich jak: miażdżyca, choroby neurodegeneracyjne, cukrzyca, zakażenia wirusowe i bakteryjne, a także w chorobach nowotworowych, w tym w raku prostaty, trzustki, piersi, wątroby, pęcherza, okrężnicy, czerniaku, glejaku [4,5]. Istnieje jednak niewiele informacji dotyczących udziału stresu oksydacyjnego w karcynogenezie jajnika.

Stres oksydacyjny to brak równowagi pomiędzy aktywnością procesów wolnorodnikowych a zdolnością do szybkiej detoksykacji reaktywnych produktów pośrednich oraz naprawy wywołanych przez nie uszkodzeń. Zaburzenia w prawidłowym stanie redukcji mogą wywołać działanie toksyczne poprzez produkcję nadtlenu i wolnych rodników, które powodują uszkodzenia wszystkich składników komórki. Umiarkowany stres oksydacyjny może wywołać apoptozę, a silniejszy może prowadzić do martwicy komórek.

Reaktywne formy tlenu (*Reactive Oxygen Species* - ROS) to cząsteczki chemiczne zawierające w swoim składzie atomy tlenu z niesparowanym elektronem zdolne do uczestniczenia w reakcjach chemicznych, które odgrywają znaczącą rolę w metabolizmie, apoptozie i starzeniu się organizmów żywych oraz, jak wskazują liczne badania w karcynogenezie. ROS mogą powstawać w wyniku wielu procesów chemiczno-fizycznych, m. in. niecałkowitej redukcji tlenu podczas oddychania wewnątrzkomórkowego, podczas reakcji autooksydacji czy reakcji Fentona lub podczas ekspozycji na działanie czynników zewnętrznych, takich jak: promieniowanie jonizujące i nadfioletowe, zbyt wysoka lub niska temperatura, jony metali ciężkich i niektóre leki. Ze względu na niesparowane elektrony, cząsteczki ROS są nietrwałe i bardzo aktywne chemicznie. ROS mogą wchodzić w interakcje bezpośrednio z DNA, albo mogą utleniać lipidy, białka lub węglowodany wytwarzając produkty pośrednie, które wchodzi w reakcje z DNA wywołując mutacje. Najczęściej występujące ROS to: anionorodnik ponadtlenkowy (O_2^-), nadtlenek wodoru (H_2O_2) oraz rodnik hydroksylowy (OH^\bullet), który

INTRODUCTION

Etiopathogenesis of ovarian cancer is not fully elucidated. „Constant ovulation” theory formulated by Fathall is a hypothesis considering the role of inflammation as a carcinogenic factor in the development of ovarian cancer. According to this hypothesis, damage of epithelium covering the ovary is caused by inflammatory response to increased production of inflammatory mediators and reactive oxygen species during ovulation. This phenomenon results in abnormal repair of ovarian structure and in consequence may contribute to tumor development [1,2]. Inflammatory response resulting from ovulation may promote angiogenesis, cell proliferation, inhibit apoptosis and induce release of reactive oxygen species that in consequence induce DNA damage and lead to mutations [3].

OXIDATION PROCESSES

Oxidation processes are widely studied in both non-cancer diseases, including atherosclerosis, neurodegenerative disorders, diabetes, viral and bacterial infections, and various cancers including prostate, pancreatic, breast, liver, bladder, colon cancers, melanoma and glioma [4,5]. However, there is scarce information regarding the role of oxidative stress in the development of ovarian cancer.

Oxidative stress is a state of imbalance between the activity of oxidative processes and the ability to rapidly detoxify reactive intermediate products and to repair the damages resulting from their activity. Any deregulation of normal reduction state may lead to toxic effects caused by formation of superoxides and free radicals that are able to damage all cell structures. Moderate oxidative stress may induce apoptosis while stronger may lead to necrosis.

Reactive oxygen species (ROS) are chemical molecules containing oxygen with unpaired electron that are able to take part in chemical reactions involved in metabolism, apoptosis, aging and, as noted in many papers, carcinogenesis. ROS are formed as a result of physicochemical processes, e.g. incomplete oxygen reduction during intracellular respiration, autooxidation, Fenton's reaction or after exposure on external factors such as ionizing and ultraviolet radiation, very high or very low temperature, heavy metal ions and some drugs. Because of the presence of unpaired electrons, ROS molecules are instable and very chemically reactive. ROS are able to interact directly with DNA or can be involved in oxygenation of lipids, proteins or carbohydrates leading to formation of intermediate products able to react with DNA and induce mutations. The most common types of ROS include: superoxide anion radical (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2) as well as hydroxyl radical (OH^\bullet), that after attack on DNA may form 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG), the most commonly used marker of oxidative DNA damage. There are two types of cell defense mechanisms against ex-

atakując DNA może tworzyć 8-hydrokso-2-deoksyguanozynę (8-OHdG), najczęściej oceniany marker oksydacyjnego uszkodzenia DNA. Wyróżnia się dwa typy obrony komórek przed nadmiernym wytwarzaniem i działaniem ROS. Obronę nieenzymatyczną tworzą związki takie jak: glutation, witamina C, witamina E oraz witamina A. Natomiast enzymatyczną linię obrony stanowią enzymy antyoksydacyjne: dysmutazy ponadtlenkowe (SOD), katalazy (CAT), peroksyredoksyny (PRDX), tioredoksyny (TRX), peroksydazy oraz reduktaza glutationowa, które dodatkowo zapobiegają kumulacji uszkodzeń DNA.

Pylvas i wsp. [6] udowodnili, że stres oksydacyjny występuje już w łagodnych nowotworach jajnika, podobnie jak w guzach granicznych, a ROS powodują uszkodzenia oksydacyjne zarówno w jądrze, jak i w cytoplazmie łagodnych i granicznych guzów jajnika. 8-OHdG wykryto w około 20%, a nitrotyrozynę, świadcząca o uszkodzeniach indukowanych nie tylko przez ROS, ale także tlenek azotu, w około 45% zarówno łagodnych, jak i granicznych guzów jajnika. Poziomy te były jednak istotnie niższe w porównaniu do inwazyjnych nowotworów jajnika, gdzie ekspresja tych związków wynosiła odpowiednio 88,5% i 82,3% [7]. Wyniki te odzwierciedlają wysoki poziom uszkodzenia przez ROS, zarówno w DNA jak i cytoplazmie w inwazyjnych nowotworach jajnika [6]. Na podstawie powyższych badań można stwierdzić, że produkcja wolnych rodników w łagodnych nowotworach jajnika jest stosunkowo niska, a wzrasta podczas progresji do choroby inwazyjnej. Dodatkowo w zaawansowanych nowotworach jajnika wysoki poziom 8-OHdG wiązał się z gorszym rokowaniem, niższym zróżnicowaniem nowotworu, wyższym stadium zaawansowania klinicznego oraz gorszym wynikiem leczenia operacyjnego [6].

Ekspresja PRDX jest wyższa w guzach granicznych niż w guzach łagodnych [6]. Jednak wydaje się, że PRDX w sposób złożony uczestniczą w procesie karcynogenezy. Prawidłowe stężenia PRDX działają jak antyoksydanty zapobiegając karcynogennym skutkom stresu oksydacyjnego. Z drugiej strony, wzrost stężenia tych enzymów w guzach granicznych może zapobiegać apoptozie wywołanej stresem oksydacyjnym, indukować proliferację oraz umożliwiać akumulację uszkodzeń DNA i promocję karcynogenezy. Stwierdzono, że wysoki poziom ekspresji innego antyoksydantu – tioredoksyny, występuje zarówno w łagodnych, jak i granicznych guzach. Wyższa jądrowa ekspresja TRX była częstsza w łagodnych niż granicznych guzach [6]. Badania te sugerują zmienność ekspresji antyoksydantów, jako możliwy wyznacznik progresji choroby. Można więc wysnuć wniosek, że w miarę postępu choroby zmniejsza się potencjał antyoksydacyjny oraz dochodzi do upośledzenia procesów naprawczych w komórkach. Jednak wniosek ten należy potwierdzić większą liczbą badań. Afanas'ev [5] podkreśla ważną rolę wolnych rodników, jako cząstek sygnałowych,

cessive ROS formation and activity. Nonenzymatic defense system is composed of glutathione, vitamin C, vitamin E and vitamin A. On the other hand enzymatic defense system consists of antioxidative enzymes including: superoxide dismutase (SOD), catalases (CAT), peroxiredoxins (PRDX), thioredoxins (TRX), peroxidases and glutathione reductase that additionally protect from cumulative DNA damage.

Pylvas et al. [6] have shown that oxidative stress is present in benign as well as marginal ovarian tumors, while ROS induce oxidative damage in testicles as well as in cytoplasm of benign and marginal ovarian tumors. 8-OHdG was observed in approx. 20%, while nitrotyrosine, a marker of ROS- and NO- induced damage, in approx. 45% of both benign and marginal ovarian tumors. However, the levels of these substances were significantly lower in comparison to invasive ovarian tumors, where the expression of 8-OHdG and nitrotyrosine was 88.5% and 82.3% respectively [7]. These results reflect excessive damage caused by ROS, both in DNA and cytoplasm of invasive ovarian tumors [6]. On the basis of the above studies we conclude, that formation of free radicals in benign ovarian tumors is relatively low, and increases in progression to invasive disease. In addition, in advanced ovarian tumors high level of 8-OHdG was related to poor prognosis, lower grading and higher clinical stage of the tumor and worse surgical outcomes [6].

PRDX expression in marginal tumors is higher in comparison to benign tumors. However, it seems that the role of PRDX in carcinogenesis is complex. In normal concentration PRDX acts as antioxidant and protects from carcinogenic effects of oxidative stress. On the other hand, increased concentration of these enzymes in marginal tumors may protect from apoptosis caused by oxidative stress, induce proliferation and allow accumulation of DNA damage and progression of carcinogenesis. High concentration of another antioxidant, thioredoxin, was observed both in benign and marginal tumors. Increased nuclear expression of TRX was more frequent in benign than in marginal tumors [6]. These studies suggest that aberrant expression of antioxidative proteins might serve as a marker of disease progression. Hence, we can conclude that during disease progression antioxidative potential is decreased and reparative processes in the cell are impaired. However, these conclusions require further studies.

które nie powinny być całkowicie zniszczone przez antyoksydanty, a także sugeruje, iż umiarkowany stres oksydacyjny może stymulować proliferację i przeżycie komórek nowotworowych. Proces ten może ułatwiać transformację komórek prawidłowych w nowotworowe, a dopiero nasilenie stresu oksydacyjnego powoduje apoptozę i śmierć komórek. Mitochondria są głównym miejscem tworzenia ROS w komórkach, w tym także nowotworowych. Mutacje mitochondrialnego DNA mogą więc stymulować produkcję wolnych rodników i w ten sposób przyczyniać się do nowotworzenia. W komórkach raka jajnika wykazano zwiększoną produkcję ROS, a także wyższą ekspresję jednego ze źródeł ROS- oksydazy NADPH. Jednocześnie wiadomo, że synteza tego enzymu podlega kontroli mitochondriów [5]. Wykazano również, że ROS regulują ekspresję indukowanego niedotlenieniem czynnika 1 (HIF-1) oraz czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF), powodując nasilenie procesów angiogenezy i wzrost guza [5].

Oksydaza NADPH (z rodziny flawoenzymów) katalizuje transfer elektronów z NADPH na O_2 , produkując przy tym anionorodnik ponadtlenkowy ($O_2^{\cdot-}$) podczas tzw. „wybuchu tlenowego”, a także nadtlenek wodoru (H_2O_2) oraz inne, aktywne ROS [4].

Jiang i wsp. [8] badali wpływ DPI (nieodwracalny inhibitor flawoprotein) na apoptozę w komórkach nabłonkowego raka jajnika (EOC). Komórki EOC pod wpływem DPI wykazywały wzrost aktywności kaspazy-3, co skutkowało obniżeniem poziomu oksydazy NADPH, a następnie spadkiem produkcji ROS i nasileniem apoptozy. Jednocześnie wykazano, że komórki EOC bez DPI wykazywały wysokie stężenia oksydazy NADPH). Komórki EOC pod wpływem DPI wykazywały obniżone stężenia HIF-1 α i SOD3 skutkujące niższym poziomem stresu oksydacyjnego oraz indukcją apoptozy. Ponadto stwierdzono, że zwiększona ekspresja SOD3 znacznie indukuje ekspresję HIF-1 α w guzach w warunkach niedotlenienia. Zmniejszenie poziomu ROS poprzez zahamowanie oksydazy NADPH może więc spowodować obniżenie stężenia SOD3, które prowadzi do destabilizacji HIF-1 α , co w konsekwencji skutkuje apoptozą. Powyższe badania, udowadniające indukcję apoptozy komórek raka jajnika, jako skutek hamowania oksydazy NADPH, mogą stanowić cel przyszłej terapii przeciwnowotworowej [8].

Stres oksydacyjny wpływa na procesy starzenia komórek głównie za pośrednictwem wzmożonej produkcji ROS wynikającej z upośledzenia procesów wolnorodnikowych w reakcjach łańcucha oddechowego. Książek i wsp. [9] oceniali rolę m.in. fibronektyny (FN), która może indukować stres oksydacyjny, w adhezji starzejących się komórek mezotelialnych otrzewnej (HOMC-*senescent human omentum-derived peritoneal mesothelial cells*) do komórek raka jajnika. Dokładne przyczyny procesów starzenia HOMC *in vivo* pozostają niewyjaśnione. Przyjmuje się, że potencjalną przyczyną, która przyspiesza te procesy może być stres oksydacyjny wywołany przez stan zapalny. Wykazano,

Afanas'ev [5] emphasized the important role of free radicals as signal molecules that should be completely destroyed by antioxidants and suggested that moderate oxidative stress may stimulate proliferation and survival of cancer cells. This process may facilitate transformation of normal cells into cancer cells while increase in oxidative stress induces apoptosis and cell death. Mitochondria are the main organelles responsible for ROS formation within the cell, including cancer cells. Mutations of mitochondrial DNA can stimulate formation of free radicals and in consequence take part in carcinogenesis. Increased formation of ROS as well as overexpression of NADPH oxidase, a source of ROS, was observed in ovarian cancer cells. Simultaneously, synthesis of this enzyme is controlled by mitochondria [5]. Moreover, it was shown that ROS regulate expression of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) and in consequence increase angiogenesis and tumor growth [5].

NADPH oxidase (a flavoenzyme) catalyzes electron transfer from NADPH onto O_2 , resulting in formation of superoxide anion radical during so called „respiratory burst” as well as hydrogen peroxide (H_2O_2) and other active ROS [4].

Jiang et al. [8] studied the influence of DPI (irreversible inhibitor of flavoproteins) on apoptosis of epithelial ovarian cancer cells (EOC). EOC incubated with DPI had increased activity of caspase-3 that resulted in reduced expression of NADPH oxidase and in consequence reduction of ROS formation and activation of apoptosis. Simultaneously, they showed that EOC not exposed on DPI had high expression of NADPH oxidase. EOC incubated with DPI had reduced level of HIF-1 α and SOD3 what in consequence resulted in lower level of oxidative stress and induction of apoptosis. Moreover, the authors observed that increased expression of SOD3 significantly induces the expression of HIF-1 α in tumors in hypoxic conditions. Reduction of ROS caused by inhibition of NADPH oxidase can reduce the concentration of SOD3 and in consequence lead to destabilization of HIF-1 α that leads to apoptosis. The above studies confirming induction of apoptosis in ovarian cancer cells as a result of NADPH oxidase inhibition, may reveal a new target for anticancer therapy.

Oxidative stress influence cell aging processes mainly through increased formation of ROS caused by impaired oxidative processes in respiratory chain reactions. Książek et al. [9] assessed the role of oxidative stress inducer - fibronectin (FN) - in adhesion of senescent human omentum-derived peritoneal mesothelial cells (HOMC) to ovarian cancer cells. Detailed cause of HOMC senescence *in vivo* remains unknown. It is assumed that a potential cause of accelerated senescence is oxidative stress induced by inflammation. It was shown that HOMC derived from elderly women are more prone to oxidative stress and exert increased expression of inflammatory mediators [9]. Adhesion of

że HOMC pochodzące od starszych pacjentek są bardziej podatne na stres oksydacyjny i wykazują zwiększoną ekspresję mediatorów prozapalnych [9]. Adhezja komórek nowotworowych do komórek mezotelialnych otrzewnej, uważana jest za kluczowy etap rozpowszechniania choroby w otrzewnej. Zwiększone wytwarzanie FN jest związane ze stresem oksydacyjnym oraz jest uważane za typową cechę starzejących się komórek. Proces ten potwierdzono poprzez wykazanie zwiększonej ekspresji *mRNA* FN w starzejących się komórkach HOMC [9]. Fibronektyna odpowiada za wiele funkcji komórkowych, w tym procesy naprawcze tkanek, proliferację, adhezję i migrację komórek. Wykazano, że FN uwolniona z otrzewnowych komórek mezotelialnych stymuluje ruchliwość komórek raka jajnika *in vitro*, jak również stwierdzono, że różne linie komórkowe raka jajnika (OVCAR-3, SKOV-3, A2780) wykazują silną adhezję do starzejących się komórek mezotelialnych [9]. Efekt ten był wyraźnie związany z liczbą starzejących się komórek w populacji oraz ze zwiększonym wydzielaniem FN. Wykazano również, że adhezja starzejących się HOMC może być znacznie obniżona poprzez dodatek antyoksydantów. Ponadto, fibroblasty przylegające do komórek raka jajnika, wykazywały nasilone procesy starzenia, prawdopodobnie wywołane stresem oksydacyjnym, a starzejące się fibroblasty promowały angiogenezę nowotworów [9].

Kolejne badania dowiodły, że stres oksydacyjny nie tylko nieodłącznie wiąże się z procesem karcynogenezy w jajniku, ale również może wpływać na wyniki leczenia raka jajnika. Chan i wsp. [10] badali korelację MKP3 (*mitogen-activated protein kinase phosphatase*) i ERK1/2 (*extracellular signal-regulated kinase*) ze stresem oksydacyjnym. Wykazali, że utrata białka MKP3 w raku jajnika była odwrotnie skorelowana z aktywnością ERK1/2 i wiązała się ze zwiększoną wewnątrzkomórkową akumulacją H_2O_2 . Oddziaływanie H_2O_2 na komórki raka jajnika powodowało więc degradację MKP3. Ponieważ aktywacja szlaku sygnałowego ERK przyczynia się do rozwoju wielu nowotworów, w tym raka jajnika oraz potęguje oporność na leczenie cisplatiną, zahamowanie aktywności ERK1/2 przez MKP3 może prowadzić do apoptozy komórek raka jajnika opornych na cisplatinę [10].

Nadekspresja białek miR-141 i miR-200a z grupy miRNA znacznie zmniejsza całkowitą ilość białka p38 β , co wiąże się ze zwiększoną produkcją ROS oraz stymulacją obrony antyoksydacyjnej. Komórki nowotworowe wykazujące takie zależności posiadały wysoki indeks mitotyczny, przez co wykazywały szybszy wzrost, co odgrywa znaczącą rolę w karcynogenezie. Ponadto wykazano, że nadekspresja miR-141 i miR-200a, a także inaktywacja białka p38 β , poprzez ochronę przed śmiercią komórek, promuje nowotworzenie u nieleczonych pacjentek, natomiast zwiększa apoptozę komórek i hamuje wzrost nowotworu podczas leczenia paklitakselem, który powoduje wzrost ROS. Wydaje się więc, że białka z grupy miRNA z jednej strony mogą

cancer cells to peritoneal mesothelial cells is considered a key stage of dissemination of the disease in peritoneal cavity. Increased production of FN is related to oxidative stress and is considered a typical feature of senescent cells. Observed up-regulation of FN mRNA expression in senescent HOMC confirmed the process [9]. Fibronectin is responsible for various cellular functions including tissue repair processes, cell proliferation, adhesion and migration. It was shown that FN released by peritoneal mesothelial cells stimulates motility of ovarian cancer cells *in vitro*. Moreover, various ovarian cancer cell lines (OVCAR-3, SKOV-3, A2780) exert strong adhesion to senescent mesothelial cells [9]. This effect was clearly related to the number of senescent cells in the population as well as with increased secretion of FN. It was also shown that adhesion of senescent HOMC might be significantly decreased by the addition of antioxidants. In addition, fibroblasts adhered to ovarian cancer cells showed advanced senescence probably caused by oxidative stress while senescent fibroblasts promoted tumor angiogenesis [9].

Further studies confirmed that oxidative stress is not only inherently related to ovarian carcinogenesis but can also affect the results of ovarian cancer treatment. Chan et al. [10] studied the correlations between mitogen-activated protein kinase phosphatase (MKP3) and extracellular signal-regulated kinase (ERK1/2) and oxidative stress. They showed that loss of MKP3 protein in ovarian cancer reversely correlated with ERK1/2 activity and was related to increased extracellular accumulation of H_2O_2 . Hence, the influence of H_2O_2 on ovarian cancer cells was responsible for degradation of MKP3. Because activation of ERK signal transduction pathway contributes to the development of various cancers including ovarian cancer and increases cisplatin resistance, inhibition of ERK1/2 by MKP3 may lead to apoptosis of ovarian cancer cells resistant to cisplatin.

Overexpression of miRNAs (miR-141 and miR-200) significantly decrease total amount of p38 β that is related to increased formation of ROS and stimulation of antioxidative defense. Such cancer cells were characterized by high mitotic index and in consequence high proliferation rate what is an important feature of carcinogenesis. Moreover it was shown that overexpression of miR-141 and miR-200a, as well as inactivation of p38 β protect from cell death and in consequence promote carcinogenesis in untreated patients while during ROS-inducing paclitaxel treatment it leads to increase in apoptosis rate and inhibition of tumor growth. It seems that miRNAs are able to stimulate tumor growth but on the other hand increase sensitivity to chemotherapy [11].

stymulować wzrost guza, z drugiej zaś zwiększać wrażliwość na chemioterapię [11].

Poszukuje się odpowiedzi na pytania w jaki sposób można wykorzystać zjawisko stresu oksydacyjnego w terapii nowotworów oraz czy istnieją związki, które działałyby antyoksydacyjnie w stosunku do komórek nabłonka jajnika. Pewne nadzieje pokłada się w selenie - pierwiastku o silnych właściwościach antyoksydacyjnych, potrzebnym do utrzymania aktywności wybranych enzymów antyoksydacyjnych, a także do wychwytu wolnych rodników. Postawiono hipotezę, że zwiększenie dostarczania selenu do organizmu zmniejsza ryzyko zachorowania na raka, ze względu na jego działanie antyoksydacyjne, zwiększające zdolności naprawy DNA uszkodzonych ludzkich komórek. Dziaman i wsp. [12] badali wpływ suplementacji selenu na stężenie 8-oxodG (*8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoksyguanozyna*), biomarkera stresu oksydacyjnego, w grupach kobiet z rakiem oraz z mutacją BRCA1. Poziom 8-oxodG u nosicieli mutacji BRCA1 i pacjentek chorych na raka jajnika był istotnie wyższy niż u pacjentek z grupy kontrolnej. Jednocześnie 8-oxodG w próbkach moczu od pacjentek chorych na raka był znacznie wyższy niż w moczu pacjentek zdrowych. U pacjentek otrzymujących selen doszło do zredukowania stężenia 8-oxodG o blisko 26% [12]. Gifkins i wsp. [2] wykazali statystycznie istotny spadek ryzyka zachorowalności na raka jajnika o blisko 60% u kobiet dostarczających najwyższe ilości selenu z pokarmem. Stężenia witaminy A po podaniu selenu, wykazały ujemną korelację do stężeń 8-oxodG. Ponadto, przy wyższych stężeniach witaminy A w surowicy odnotowano mniej oksydacyjnych uszkodzeń DNA w komórkach. Jednak wyniki badań nad wpływem spożycia mikroelementów, witamin C i E czy β -karotenu na ryzyko rozwoju raka jajnika są sprzeczne. Brak jest bowiem dużych, randomizowanych badań na temat roli suplementacji selenu w zapobieganiu raka [13].

Komórki nowotworowe produkują nadmierne ilości ROS, więc istnieją w warunkach ciągłego stresu oksydacyjnego. Ze względu na różne właściwości ROS oraz ich wpływ nie tylko na pobudzenie, ale często także hamowanie procesów tworzenia guza, można wysnuć hipotezę o wykorzystaniu zarówno pro oksydacyjnych, jak i antyoksydacyjnych właściwości niektórych substancji w terapii nowotworów. Wiadomo bowiem, że próby leczenia pacjentów z chorobą nowotworową za pomocą jedynie antyoksydantów okazały się nieskuteczne [5]. Interesujące wydają się być badania dotyczące endometriozy i procesów oksydacyjnych. Pacjentki z endometriozą, zwłaszcza z wieloletnim wywiadem endometriozy [14], wykazują zwiększone ryzyko wystąpienia raka jajnika, w szczególności raka endometrioidalnego i jasnokomórkowego. Istnieją cechy wspólne dla endometriozy i raka, np. inwazja zarówno lokalna, jak i w postaci odległych przerzutów oraz niszczenie tkanek dotkniętych schorzeniem, a także miejscowa reakcja zapalna, która w raku jajnika przyczynia się do

Many studies are aimed to utilize oxidative stress in the treatment of cancer and to answer the question if there are any substances able to act as antioxidative agents in ovarian epithelial cells. Many researchers put high hopes in selenium - a chemical element with strong antioxidative properties necessary for the activity of some antioxidative enzymes and free radicals capture. It is hypothesized that increased selenium uptake decrease the risk of cancer development due to its antioxidative properties that lead to increased ability to repair DNA damages in human cells. Dziaman et al. [12] studied the influence of selenium supplementation on the concentration of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG), an oxidative stress biomarker, in women with cancer and BRCA1 mutation. The level of 8-oxodG in BRCA1 mutation carriers as well as ovarian cancer patients was significantly higher in comparison to control group. Simultaneously concentration of 8-oxodG in urine samples obtained from patients with cancer was significantly higher than in healthy patients' urine. In women supplemented with selenium a reduction of 8-oxodG concentration by almost 26% was observed [12]. Gifkins et al. [2] showed that women with the highest selenium intake had statistically significantly decreased rate of ovarian cancer (by 60%). The concentration of vitamin A after administration of selenium showed negative correlation with 8-oxodG level. Moreover, in patients with high concentrations of vitamin A in serum less oxidative DNA damage was observed. However, the results of studies concerning the influence of microelements and vitamins intake (vitamin C, E and β -carotene) on the risk of ovarian cancer development are contradictory. There are no large, randomized clinical trials concerning the role of selenium in cancer prevention [13].

Cancer cells secrete excessive number of ROS and hence they exist in constant oxidative stress environment. Because of various properties of ROS and their influence on not only stimulation but also inhibition of tumor development processes it is hypothesized that both pro- and antioxidative properties of some substances might be used in the treatment of cancer. It is known that antioxidants alone were not effective as an anticancer treatment [5]. The studies concerning endometriosis and oxidative processes seem very interesting. The patients with endometriosis, especially long-term endometriosis [14] have increased risk of ovarian cancer, especially endometrioid and clear cell ovarian carcinoma. There are common features of endometriosis and cancer, e.g. local and distant invasion, destruction of the affected tissues, local inflammation that in case of ovarian cancer stimulates tumor growth and progression while in case of endometriosis induces ectopic growth of endometrium. Many studies suggest that especially an atypical endometriosis can lead to development of ovarian cancer; however, detailed mechanisms of this process are still unknown [3]. Oxidative stress plays an important role in progression of both endometriosis and

wzrostu i progresji guza, a w przypadku endometriozy do wzrostu ekstopowego endometrium. Wiele badań sugeruje, że w szczególności atypowa endometrioza może prowadzić do przejścia tego schorzenia w raka jajnika, jednak dokładne mechanizmy tego procesu nie są do końca poznane [3]. Stres oksydacyjny odgrywa ważną rolę zarówno w progresji endometriozy, jak i raka jajnika. Istnieją sugestie, że zwiększone stężenie ROS w endometriozie jest zjawiskiem lokalnym, występującym w pobliżu implantów, a nie w całym płynie otrzewnowym [15]. Podobnych zależności, jak dotąd, nie zauważono w przypadku raka jajnika. Wiadomo także, że hem i wolne żelazo należące do prooksydantów, nagromadzone w zwiększonych ilościach w tkankach z endometriozą poprzez wsteczne miesiączkowanie oraz krwotoki w torbielach endometrialnych, nasilają aktywność procesów wolnorodnikowych oraz mogą odgrywać rolę w karcynogenezie.

Jony żelaza katalizują w reakcji Fentona syntezę rodnika wodorotlenowego- jednego z najbardziej reaktywnych utleniaczy, indukując w ten sposób stres oksydacyjny [4, 14,16]. Stężenie wolnego żelaza oraz ilość ROS w torbielach endometrialnych jest znacznie wyższe niż w torbielach bez cech endometriozy, co może przyczyniać się do częstszej indukcji mutacji DNA w tych torbielach [3,14]. Zauważono dodatnią korelację pomiędzy stężeniem żelaza, hemoglobiny i ferrytyny, a całkowitym potencjałem oksydacyjnym kobiet z endometriozą, co świadczy o zależności pomiędzy stężeniem pochodzącego z hemoglobiny żelaza a wzrostem procesów oksydacji w płynie otrzewnowym [17]. Zwiększone stężenie żelaza stwierdzono także w nowotworach jajnika z towarzyszącą endometriozą oraz w obszarach transformacji pomiędzy endometriozą a komórkami nowotworowymi [14]. Wzrost stężenia żelaza może odgrywać więc istotną rolę w nasileniu procesów oksydacji w rakach jajnika, wychodzących prawdopodobnie z endometriozy. Polak i wsp. [16] wykazali, że całkowity potencjał oksydacyjny w płynie otrzewnowym pacjentek z endometriozą był istotnie wyższy od odnotowanego u kobiet bez schorzenia. Jednocześnie w tych samych badaniach wykazano obniżenie całkowitego potencjału antyoksydacyjnego kobiet z endometriozą, szczególnie z wyższym stopniem zaawansowania [17], co można tłumaczyć nasileniem procesów wolnorodnikowych, bądź upośledzeniem procesów naprawczych w miarę postępu choroby. Yamaguchi i wsp. [14] oprócz uszkodzeń DNA w komórkach nabłonka torbieli endometrialnych, stwierdzili także zwiększone stężenia takich związków jak: dehydrogenaza laktozy (marker uszkodzenia tkanek), 8-OHdG a także LPO i MAO (markery antyoksydacyjne). Badania te sugerują, że w torbielach endometrialnych dochodzi zarówno do nasilenia procesów oksydacji, jak i nasilenia aktywności antyoksydacyjnej. Dodatkowo, w płynie otrzewnowym pacjentek z endometriozą odnotowano wyższe stężenia 8-OHdG, korelujące dodatnio ze stopniem zaawansowania choroby [17].

ovarian cancer. Some authors suggest that increased formation of ROS in endometriosis is a local phenomenon, observed in the surroundings of implanted endometrium but not in peritoneal fluid in general [15]. So far no similar relationships were observed for ovarian cancer. It is known that prooxidative agents such as heme and free iron when accumulated in greater amounts in endometriosis-affected tissues during reverse menstruation and bleeding from endometrial cysts may potentiate the activity of oxidative processes and take part in carcinogenesis.

In Fenton's reaction iron ions catalyze synthesis of hydroxyl radical - one of the most active oxidant - and in that way induce oxidative stress [4, 14, 16]. The concentration of free iron and the amount of ROS in endometrial cysts is significantly higher in comparison to non-endometrial cysts. It suggests that endometrial cysts might be more often affected by DNA mutations [3,14]. A positive correlation between iron, hemoglobin and ferritin concentration and total oxidative potential in women with endometriosis was observed. It suggests that there is a relationship between hemoglobin-derived iron and increased oxidative potential in peritoneal fluid [17]. Increased concentration of iron was observed also in ovarian tumors with endometriosis and in tissues transformed from endometriosis into cancer cells [14]. Increase in iron concentration may play an important role in potentiation of oxidative processes in ovarian tumors developed from endometriosis. Polak et al. [16] showed that total oxidative potential in peritoneal fluid in patients with endometriosis was significantly higher in comparison to oxidative potential in control group. Simultaneously, in the same study, decrease of total oxidative potential in women with endometriosis, especially in advanced stages [17], was observed. It might be explained by intensified free radical processes or impairment of reparatory processes in the course of the disease. Apart from DNA damage in endometrial cysts epithelium, Yamaguchi et al. observed increased concentration of lactose dehydrogenase (tissue damage marker), 8-OHdG as well as LPO and MAO (antioxidant markers). The studies suggest that there are both increased oxidative and antioxidative processes happening within endometrial cysts. Additionally, peritoneal fluid obtained from patients with endometriosis contained increased concentrations of 8-OHdG that positively correlated with the stage of the disease [17]. Increased concentration of 8-OHdG was observed in both benign and marginal ovarian tumors; however, the highest levels were observed in malignant tumors [7]. Increased concentrations of 8-OHdG were observed also in ovarian cancers with endometriosis, and the concentrations were higher than those observed in tumors with no endometriosis [14].

Wzrost koncentracji 8-OHdG był także obserwowany w nowotworach jajnika łagodnych i granicznych, a najwyższy jej poziom odnotowano w raku jajnika złośliwych [7]. Podwyższone stężenia 8-OHdG wykazano również w nowotworach jajnika z towarzyszącą endometriozą, a stężenia te były wyższe niż w nowotworach bez towarzyszącej endometriozy [14]. Autorzy [14,17] zauważyli dodatnią korelację pomiędzy stężeniem 8-OHdG oraz koncentracją żelaza w endometriozie. Istnieje więc kolejny dowód na udział wielu substancji w nasileniu procesów oksydacji, najprawdopodobniej nie tylko w endometriozie, ale również w nowotworach jajnika.

PODSUMOWANIE

Przedstawione powyżej badania nad wpływem stresu oksydacyjnego na proces karcynogenezy mogą sugerować nowe możliwości skriningu i terapii u chorych na raka jajnika. Należy jednak pamiętać o różnorodności raka jajnika, a więc taki test przesiewowy może nie być skuteczny w wykrywaniu wszystkich typów nowotworu.

Some authors observed a positive correlation between the concentration of 8-OHdG and iron level in endometriosis [14,17]. Hence, there is another proof of the role of various substances in potentiation of oxidative processes, not only in endometriosis but also in ovarian cancer.

SUMMARY

The studies reviewed above concerning the role of oxidative stress in carcinogenesis might suggest new possibilities of screening and treatment of ovarian cancer. However, we should remember that ovarian cancer is very diverse and hence, screening test might not be effective in the diagnosis of all types of cancer.

Piśmiennictwo / References:

1. **Bieber EJ, Sanfilippo JS, Horowitz IR.** Clinical Gynecology, 1e. Polish edition by Elsevier Urban & Partner, 2009;727-740.
2. **Gifkins D, Olson SH, Paddock L et al.** Total and individual antioxidant intake and risk of epithelial ovarian cancer. *BMC Cancer* 2012;12:211.
3. **Munksgaard SP, Blaakaer J.** The association between endometriosis and ovarian cancer: A review of histological, genetic and molecular alterations. *Gynecologic Oncology* 2012;124:164-169.
4. **Rutkowski R, Pancewicz SA, Rutkowski K, Rutkowska J.** Znaczenie reaktywnych form tlenu i azotu w patomechanizmie procesu zapalnego. *Pol Merk Lek* 2007; XXIII, 134:131.
5. **Afanas'ev I.** Reactive Oxygen Species Signaling in Cancer: Comparison with Aging. *Aging and Disease*, 2011; 2:2: 219-230.
6. **Pylvas M, Puistola U, Kaupila S et al.** Oxidative stress-induced antioxidant enzyme expression is an early phenomenon in ovarian carcinogenesis. *European Journal Of Cancer* 2010;46:1661-1667.
7. **Karihtala P, Soini Y, Vaskivuo L et al.** DNA adduct 8-hydroxydeoxyguanosine, a novel putative marker of prognostic significance in ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2009;19:1047-51.
8. **Jiang Z, Fletcher NM, Ali-Fehmi R et al.** Modulation of redox signaling promotes apoptosis in epithelial ovarian cancer cells. *Gynecologic Oncology* 2011; 122: 418-423.
9. **Książek K, Mikula-Pietrasik J, Katarzyna Korybalska K et al.** Senescent Peritoneal Mesothelial Cells Promote Ovarian Cancer Cell Adhesion. The Role of Oxidative Stress-Induced Fibronectin. *The American Journal of Pathology* 2009;174: 4.
10. **Chan DW; Liu WS, Tsao SW et al.** Loss of MKP3 mediated by oxidative stress enhances tumorigenicity and chemoresistance of ovarian cancer cells. *Carcinogenesis* 2008;29,9:1742-1750.
11. **Mateescu B, Batista L, Cardon M et al.** miR-141 and miR-200a act on ovarian tumorigenesis by controlling oxidative stress response. *Nature medicine* 2011; doi: 10.1038/nm.2512.
12. **Dziaman T, Huzarski T, Gackowski D et al.** Supplementation Reduced Oxidative DNA Damage in Adnexectomized BRCA1 Mutations Carriers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:2923-2928.
13. **Dennert G, Zwahlen M, Brinkman M et al.** Selenium for preventing cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;5:CD005195.
14. **Yamaguchi K, Mandai M, Toyokuni S et al.** Contents of Endometriotic Cysts, Especially the High Concentration of Free Iron, Are a Possible Cause of Carcinogenesis in the Cysts through the Iron-Induced Persistent Oxidative Stress. *Clin Cancer Res* 2008;14:32-40.
15. **Van Langendonck A, Casanas-Roux F, Donnez J.** Oxidative stress and peritoneal endometriosis. *Fertil Steril* 2002;77:861-870.
16. **Polak G, Kotarski J.** Całkowity potencjał oksydacyjny płynu otrzewnowego kobiet z endometriozą. *Ginekol Pol* 2010;81:922-925.
17. **Polak G.** Ocena wybranych parametrów metabolizmu żelaza oraz stresu oksydacyjnego w płynie otrzewnowym kobiet z endometriozą. 2012; ISBN 978-83-896164-7-0.