

DOI: 10.33454/1728-1261-2024-2-26-32
УДК 618.11-006.6-091.8

Клиническая и прогностическая значимость сывороточного клаудина-5 и зонулина при раке яичников

Д. Н. Кушлинский^{1,2}, О. В. Ковалева³, Д. А. Цекатунов¹, А. А. Алферов^{3,4}, Ю. Б. Кузьмин^{3,4},
Е. С. Герштейн^{3,4}, А. Н. Грачев³, Н. Н. Зыбина⁵, Е. И. Карамышева⁴, Д. В. Рогожин³,
К. И. Жордания³, И. С. Стилиди³

¹ КГБУЗ «Краевой клинический центр онкологии» министерства здравоохранения Хабаровского края, Хабаровск, Россия

² КГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации специалистов здравоохранения» министерства здравоохранения Хабаровского края, Хабаровск, Россия

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

⁴ ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России, Москва, Россия

⁵ ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

The clinical and prognostic significance of the serum claudin-5 and zonulin in ovarian cancer

D. N. Kushlinsky^{1,2}, O. V. Kovaleva³, D. A. Tsekatonov¹, A. A. Alferov^{3,4}, Yu. B. Kuzmin^{3,4}, E. S. Gershtein^{3,4},
A. N. Grachev³, N. N. Zyбина⁵, E. I. Karamysheva⁴, D. V. Rogozhin³, K. I. Zhordania³, I. S. Stilidi³

¹ Regional Clinical Oncology Center of the Ministry of Health of the Khabarovsk Krai, Khabarovsk, Russia

² Postgraduate Institute for Public Health Workers of the Ministry of Health of the Khabarovsk Krai, Khabarovsk, Russia

³ N. N. Blokhin National Medical Research Oncology Center of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

⁴ Russian University of Medicine of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

⁵ A. M. Nikiforov All-Russian Center for Emergency and Radiation Medicine of the Ministry of Emergencies of Russia, St. Petersburg, Russia

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Д. Н. Кушлинский – ORCID: 0000-0003-1490-8418; e-mail: drkushlinskiy@gmail.com

О. В. Ковалева – ORCID: 0000-0001-6132-9924; e-mail: ovkovaleva@gmail.com

Д. А. Цекатунов – ORCID: 0009-0007-1561-9681; e-mail: dmtsekatonov@inbox.ru

А. А. Алферов – ORCID: 0000-0003-3585-5693; e-mail: aleksandr.alferov@yahoo.com

Ю. Б. Кузьмин – ORCID: 0000-0001-9684-2509; e-mail: iamgryn@yandex.ru

Е. С. Герштейн – ORCID: 0000-0002-3321-801X; e-mail: esgershtein@gmail.com

А. Н. Грачев – ORCID: 0000-0003-2137-1866; e-mail: alexei.grachev@gmail.com

Н. Н. Зыбина – ORCID: 0000-0002-5422-2878; e-mail: zybinan@inbox.ru

Е. И. Карамышева – ORCID: 0000-0001-8791-5358; e-mail: prof.karamysheva@gmail.com

Д. В. Рогожин – ORCID: 0000-0003-0777-9152; e-mail: pathol.777@mail.ru

К. И. Жордания – ORCID: 0000-0003-1380-3710; e-mail: kiazo2@yandex.ru

И. С. Стилиди – ORCID: 0000-0002-0493-1166; e-mail: ronc@list.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

D. N. Kushlinsky – ORCID: 0000-0003-1490-8418; e-mail: drkushlinskiy@gmail.com

O. V. Kovaleva – ORCID: 0000-0001-6132-9924; e-mail: ovkovaleva@gmail.com

D. A. Tsekatonov – ORCID: 0009-0007-1561-9681; e-mail: dmtsekatonov@inbox.ru

A. A. Alferov – ORCID: 0000-0003-3585-5693; e-mail: aleksandr.alferov@yahoo.com

Yu. B. Kuzmin – ORCID: 0000-0001-9684-2509; e-mail: imgryn@yandex.ru

E. S. Gershtein – ORCID: 0000-0002-3321-801x; e-mail: esgershtein@gmail.com

A. N. Grachev – ORCID: 0000-0003-2137-1866; e-mail: alexei.grachev@gmail.com

N. N. Zyбина – ORCID: 0000-0002-5422-2878; e-mail: zybinan@inbox.ru

E. I. Karamysheva – ORCID: 0000-0001-8791-5358; e-mail: prof.karamysheva@gmail.com

D. V. Rogozhin – ORCID: 0000-0003-0777-9152; e-mail: pathol.777@mail.ru

K. I. Zhordania – ORCID: 0000-0003-1380-3710; e-mail: kiazo2@yandex.ru

I. S. Stilidi – ORCID: 0000-0002-0493-1166; e-mail: ronc@list.ru

Резюме

Клетки многоклеточного организма взаимодействуют между собой через систему клеточных контактов. В частности, для эпителиальных клеток характерно формирование плотных межклеточных контактов, позволяющих эффективно осуществлять межклеточный транспорт. В формировании плотного контакта принимает участие большое количество белков, в частности белки семейства клаудинов и зонулин. В процессе злокачественной трансформации происходит потеря межклеточных взаимодействий и изменение экспрессии белков, отвечающих за их формирование, за счет приобретения неопластическими клетками мезенхимального фенотипа.

Цель исследования

Сравнительный анализ содержания зонулина и клаудина-5 в сыворотке крови больных раком яичников и здоровых женщин, их связь с основными клинико-морфологическими характеристиками опухоли и прогнозом. Медиана и квартили содержания зонулина в сыворотке крови больных раком яичников составили 57,4; 40,1–72,4 нг/мл, что значительно выше, чем в контрольной группе: 11,4; 8,3–16,0 нг/мл, $p < 0,0001$, в то время как для клаудина-5 таких различий не выявлено. Анализ ассоциации содержания зонулина и клаудина-5 в сыворотке крови больных раком яичников с клинико-морфологическими характеристиками заболевания показал, что повышение содержания зонулина в сыворотке крови ассоциировано с более распространенной стадией заболевания, большим размером опухоли и наличием регионарных метастазов, в то время как для клаудина-5 значимых ассоциаций не наблюдали. Анализ не выявил прогностической роли исследованных белков у больных раком яичников в сыворотке крови. Однако у них наблюдаются изменения в содержании растворимых форм зонулина и клаудина-5 в сыворотке крови, что при дальнейшем исследовании может способствовать совершенствованию систем мониторинга клинического течения данного заболевания.

Ключевые слова: рак яичников, зонулин, клаудин-5, сыворотка крови

Abstract

The cells of the multicellular organism interact with each other through the system of cell contacts. In particular, epithelial cells are characterized by the formation of dense intercellular contacts that allow effectively carry out intercellular transport. A large number of proteins take part in the formation of tight contact, in particular the proteins of the claudin family and zonulin. In the process of malignant transformation, there is a loss of intercellular interactions and a change in the expression of proteins responsible for their formation by acquiring the mesenchymal phenotype by neoplastic cells.

Objective

A comparative analysis of the content of zonulin and claudin-5 in blood serum patients with ovarian cancer and healthy women, their connection with the main clinical and morphological characteristics of the tumor and the prognosis. Mediana and the quartiles of zonulin in the blood serum of patients with ovarian cancer were 57.4; 40.1–72.4 ng/ml, which is significant than in the control group: 11.4; 8.3–16.0 ng/ml, $p < 0.0001$, while there were no such differences for claudin-5. Analysis of the Association of Zonulin and Claudin-5 in the blood serum of patients with ovarian cancer with clinical and morphological characteristics of the disease showed that an increase in the content of zonulin in blood serum is associated with a more common stage of the disease, a large tumor size and the presence of regional metastases, while for claudin-5 no significant associations were observed. The analysis did not reveal the prognostic role of the proteins studied in patients with ovarian cancer in blood serum. However, they have changes in the content of soluble forms of zonulin and claudin-5 in blood serum, which with further examination can help improve the monitoring systems of the clinical course of this disease.

Keywords: ovarian cancer, zonulin, claudin-5, blood serum

Белки семейства клаудинов – один из важнейших компонентов плотных межклеточных контактов – представляют собой трансмембранные белки массой 20–27 кДа, четыре раза пересекающие клеточную мембрану таким образом, что их N-концевой и C-концевой домены расположены в цитоплазме. Функционально они образуют барьер, контролирующий прохождение молекул в межклеточное пространство эпителия для поддержания клеточной полярности и привлечения сигнальных белков. Также плотные контакты принимают участие в процессах пролиферации и дифференцировки [1]. Одной из отличительных черт злокачественной трансформации является потеря плотных контактов в процессе эпителиально-мезенхимального перехода. Хотя ожидается, что уровень клаудинов должен снижаться при развитии опухолей, для некоторых новообразований характерна повышенная экспрессия белков данного семейства. Функциональное значение повышенного локального уровня этих белков в настоящее время неизвестно, однако они мо-

гут быть важными для миграции, инвазии и выживания клеток.

Наряду с клаудинами, зонулин также является белком, участвующим в формировании плотных межклеточных контактов между эпителиальными клетками кишечника, локальное повышение экспрессии которого характерно для различных воспалительных и онкологических заболеваний. Так, повышение экспрессии зонулина наблюдается при большинстве воспалительных заболеваний кишечника, например в случае болезни Крона или неспецифическом язвенном колите, а также при развитии колоректального рака. Однако повышение содержания зонулина в сыворотке крови наблюдается и при многих других патологиях, таких как хроническая обструктивная болезнь легких [2], хронические болезни почек [3], злокачественные новообразования многих локализаций [4], ожирение и т.д., что свидетельствует в пользу того, что зонулин потенциально можно рассматривать в качестве маркера, связанного с системным воспалением.

В настоящее время исследования клаудина-5 и зонулина при раке яичников проводятся как на фундаментальном, так и на клиническом уровне. Фундаментальные исследования, проводимые с использованием клеточных линий или животных моделей, включают в себя исследования механизмов экспрессии генов, их эпигенетической регуляции и функциональной активности. В клинических исследованиях усилия в основном сосредоточены на тканевой экспрессии данных белков. Известно, что и клаудины, и зонулин могут быть обнаружены в циркуляции как в свободном виде, так и в составе экзосом [5], и их концентрация изменяется при развитии злокачественных новообразований [6].

Данная работа посвящена исследованию содержания клаудина-5 и зонулина в сыворотке крови здоровых женщин и больных раком яичников, а также диагностической и прогностической значимости этих белков.

Материал и методы

В исследование включены 65 больных раком яичников (РЯ), проходивших лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, и 15 здоровых женщин. Все процедуры, выполненные в исследовании с участием больных и здоровых женщин, со-

ответствуют стандартам этического комитета организации и Хельсинкской декларации 1964 года и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включенных в исследование участников получено информированное добровольное согласие. Клинический диагноз у всех пациентов подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной гистологической классификации опухолей яичников, принятой ВОЗ в 2014 году. В исследование включены пациентки с эпителиальным раком яичников трех гистологических типов: серозным (50), эндометриоидным (10) и муцинозным (5). В таблице 1 представлена характеристика исследуемой выборки.

Концентрацию зонулина и клаудина-5 определяли в сыворотке крови с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа до начала специфического лечения: для зонулина – тест-система ZONULIN ELISA (Immundiagnostic AG, Германия), для клаудина-5 – тест-система Elabscience (Китай) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Содержание маркеров выражали в нанogramмах (нг) на 1 мл сыворотки крови.

Таблица 1

Клинико-морфологические характеристики больных раком яичников

Клинико-морфологические характеристики рака яичников	Число наблюдений абс. (отн.)
Гистологический тип	
Серозный	50 (77 %)
Эндометриоидный	10 (15 %)
Муцинозный	5 (3 %)
Стадия	
I–II	21 (32 %)
III–IV	44 (68 %)
Размер опухоли	
T1–T2	24 (37 %)
T3–T4	41 (63 %)
Наличие регионарных метастазов	
N0	56 (86 %)
N+	9 (14 %)
Наличие отдаленных метастазов	
M0	59 (91 %)
M1	6 (9 %)
Степень дифференцировки опухоли: серозный рак	
низкая степень злокачественности (low grade)	15 (30 %)
высокая степень злокачественности (high grade)	35 (70 %)
Степень дифференцировки опухоли: муцинозный и эндометриоидный рак	
G1–G2	11 (73 %)
G3	4 (27 %)

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием GraphPad Prism v. 10. При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические критерии Манна-Уитни, Краскала-Уоллиса, коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Анализ общей выживаемости проводили путем построения кривых дожития по методу Каплана-Майера на всей выборке в целом независимо от гистологического типа опухоли и стадии заболевания. Для анализа отдаленных результатов лечения (показателей общей выживаемости) методом Каплана-Майера больных разделили на 2 группы сравнения в зависимости от содержания маркеров выше или ниже медианы. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования провели оценку содержания растворимых форм зонулина и клаудина-5 в сыворотке крови больных РЯ и здоровых женщин, а также в зависимости от гистологического типа опухоли. Медиана содержания клаудина-5 в сыворотке крови здоровых доноров составила 0,74 (0,18–1,87) нг/мл, а в группе больных РЯ – 0,97 (0,42–1,94) нг/мл ($p = 0,400$). Медиана содержания зонулина в сыворотке крови в группе

контроля составила 11,41 (8,35–16,03) нг/мл, что статистически значимо ниже, чем у больных раком яичников, – 57,4 (40,1–72,46) нг/мл ($p < 0,0001$). Далее провели анализ информативности диагностического метода с помощью оценки его чувствительности и специфичности путем построения ROC-кривых и вычисления площади под ними (AUC). Результаты представлены на рисунке 1 и в таблице 2.

Содержание клаудина-5 в сыворотке крови у больных РЯ не отличается от показателей контрольной группы. Для зонулина чувствительность составляет 94 %, специфичность – 93 % при оптимальном пороговом уровне 30,44 нг/мл (AUC – 0,979; $c - 95$ %; ДИ – 0,952–1,0; $p < 0,0001$). Полученные результаты свидетельствуют о достаточно хорошем качестве модели, однако для их внедрения в клиническую практику необходимо проводить дополнительные исследования, так как повышение уровня зонулина в сыворотке показано не только при опухолях яичников, но и при других солидных опухолях.

На следующем этапе исследования провели анализ взаимосвязи уровней зонулина и клаудина-5 с клинико-морфологическими характеристиками больных РЯ. Результаты представлены в таблице 2.

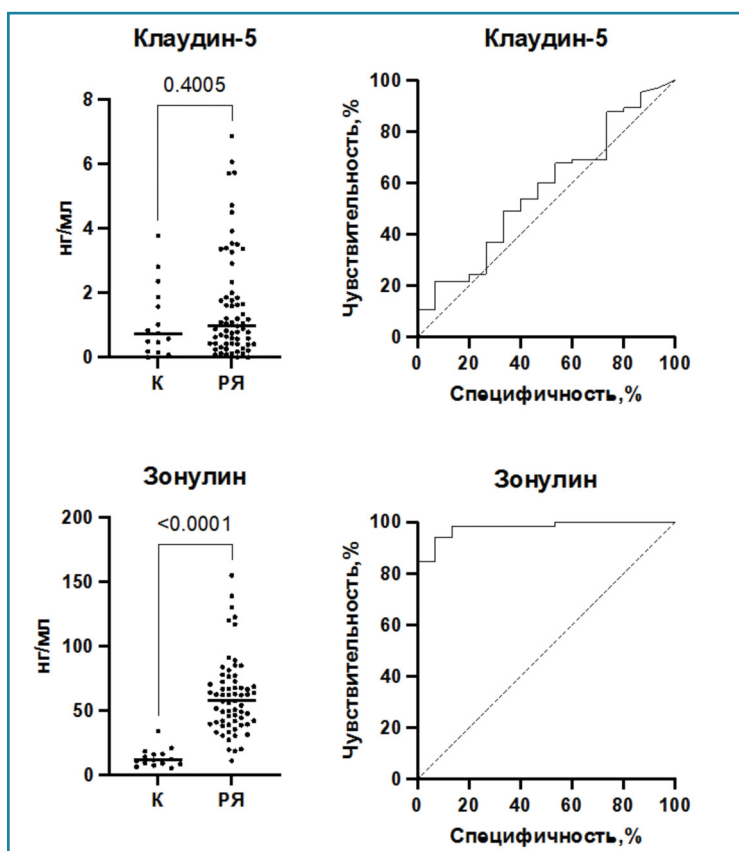


Рис. 1. Сравнительный анализ уровня зонулина и клаудина-5 у больных РЯ и здоровых женщин. ROC-анализ для зонулина и клаудина-5 у больных РЯ: площадь под ROC-кривой составляет 0,571 ($p = 0,395$) для клаудина-5 и 0,979 ($p < 0,0001$) для зонулина

Таблица 2

Ассоциация содержания зонулина и клаудина-5 в сыворотке крови больных РЯ с клиничко-морфологическими характеристиками

Характеристика Characteristic	Клаудин-5, нг/мл			Зонулин, нг/мл		
	Медиана	25–75 %	p	Медиана	25–75 %	p
Гистологический тип						
Серозный	0,88	0,41–1,69	0,276	62,5	42,0–77,3	0,089
Эндометриоидный	3,27	0,31–4,81		41,9	28,9–62,9	
Муцинозный	1,43	0,55–4,81		48,3	29,5–58,6	
Стадия/Stage						
I–II	1,09	0,45–3,47	0,310	46,17	38,2–63,4	0,023*
III–IV	0,83	0,41–1,83		62,49	42,6–80,3	
Размер опухоли/Tumor size						
I–II	1,03	0,31–3,38	0,528	47,6	38,6–63,9	0,029*
III–IV	0,88	0,43–1,81		62,5	43,2–83,0	
Наличие регионарных метастазов (N)/Nodal status						
N0	1,00	0,42–2,26	0,604	52,8	38,9–68,3	0,011*
N+	0,76	0,28–1,86		84,8	59,8–119,7	
Наличие отдаленных метастазов (M)/Metastasis						
M0	0,89	0,41–2,01	0,728	57,2	39,5–68,5	0,128
M+	1,41	0,37–2,26		79,4	50,1–96,2	
Степень дифференцировки серозный рак (G)/Grade						
Low grade	0,59	0,41–1,–33	0,369	67,6	46,2–77,2	0,519
High grade	1,06	0,41–1,85		62,5	40,7–77,7	
Степень дифференцировки (G) муцинозный и эндометриоидный рак/Grade						
G1–G2	2,58	0,35–5,17	0,628	38,4	18,8–53,4	0,569
G3	0,93	0,19–4,57		48,3	36,8–55,3	

Примечание: * – статистически значимо.

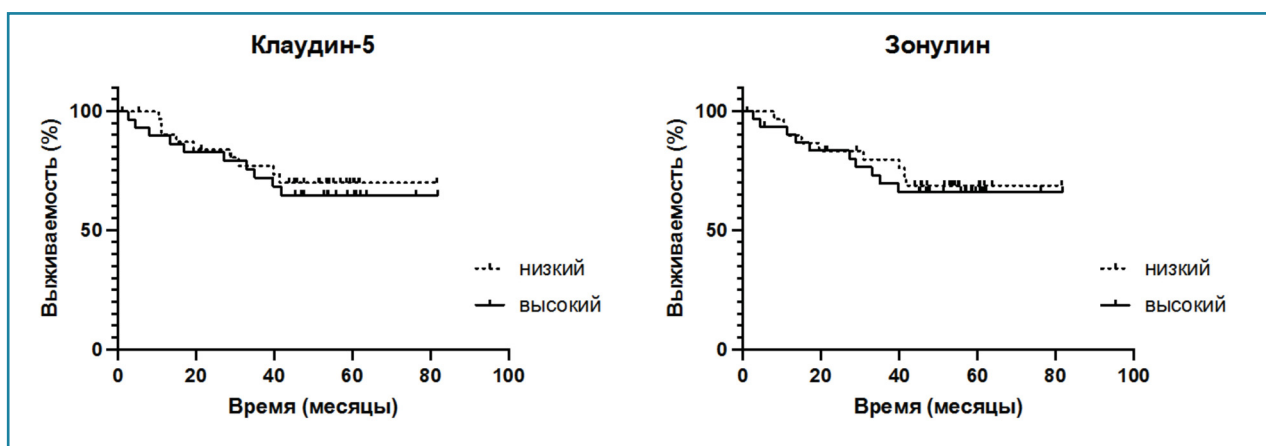


Рис. 2. Общая выживаемость больных раком яичников в зависимости от медианы содержания зонулина и клаудина-5 у больных РЯ

Проведенный анализ показал, что содержание зонулина значимо ассоциировано с клиничко-морфологическими характеристиками заболевания: стадией, размером первичной опухоли, наличием метастазов в лимфоузлах, в то время как для клаудина-5 таких закономерностей не наблюдается.

На заключительном этапе работы оценили прогностическую значимость исследованных белков с учетом их уровней в сыворотке крови. Результаты представлены на рисунке 2. Проведенный анализ показал отсутствие прогностической значимости исследованных белков при раке яичников.

Дополнительно провели корреляционный анализ между содержанием зонулина и клаудина-5 у больных РЯ и установили, что содержание данных белков в сыворотке крови не коррелирует друг с другом ($r = 0,121$; $p = 0,337$).

Снижение экспрессии белков плотных контактов при развитии злокачественных новообразований согласуется с общепринятой концепцией о том, что опухолевый рост сопровождается нарушением плотных межклеточных взаимодействий, и этот процесс может играть важную роль в миграционной и инвазивной способности опухолевых клеток, а также связан с нарушением их дифференцировки. В частности, в опухолях желудочно-кишечного тракта часто выявляется снижение экспрессии окклюдина, в то время как снижение экспрессии клаудинов показано для рака молочной железы, желудка и колоректального рака [7–9]. Однако стоит отметить, что в литературе описано достаточно много вариантов парадоксальной экспрессии клаудинов, в частности повышение их содержания в опухоли по сравнению с нормальной тканью. Так, клаудин-3 и клаудин-4 обычно повышаются при многих видах злокачественных новообразований, что позволяет предположить, что экспрессия данных белков может оказывать положительное влияние на развитие опухолей. Недавние исследования показали, что в клетках яичников экспрессия клаудина-3 и клаудина-4 может приводить к увеличению их инвазии, подвижности и выживаемости [10]. Показано, что высокая тканевая экспрессия клаудина-5 ассоциирована с более агрессивным поведением серозного рака яичников, а также с повышенным содержанием СА125 при пограничных опухолях яичников [11, 12]. С другой стороны, при изучении плоскоклеточного рака легкого показано, что высокая экспрессия клаудина-5 снижает пролиферативную способность опухолевых клеток и тем самым может являться благоприятным прогностическим фактором [13].

В 2006 году 2 исследовательские группы показали, что клаудины-3 и -4, несмотря на различия в экспрессии при злокачественной трансформации яичников, могут быть использованы в качестве новых маркеров опухолей данного типа [14, 15]. В нашем исследовании сывороточное содержание клаудина-5 не было диагностически значимым и не отличалось от такового у здоровых женщин. При увеличении распространенности РЯ изменения содержания клаудина-5 в циркуляции не наблюдались. Клаудин-5, по нашим данным, также не является прогностически значимым

фактором при РЯ, что не в полной мере согласуется с данными литературы, указывающими на неблагоприятную прогностическую роль данного белка при данной патологии [16].

В то же время содержание другого белка плотных межклеточных контактов – зонулина в сыворотке крови больных раком яичников было значимо повышено по сравнению с контрольной группой и возрастало при увеличении стадии заболевания, размера и распространенности первичной опухоли, регионарном метастазировании. Аналогичные результаты получены и в других исследованиях, в частности при изучении гепатоцеллюлярной карциномы и колоректального рака [17, 18]. Неблагоприятная прогностическая значимость зонулина показана при глиобластоме, однако для опухолей других нозологий еще не определена [19]. В нашем исследовании зонулин также не проявился как прогностически значимый маркер РЯ.

Проведение дополнительных исследований может способствовать внедрению анализа белков межклеточных контактов в клиническую практику. Клаудины являются важным компонентом межклеточных взаимодействий и принимают участие в различных сигнальных путях, которые влияют на все аспекты биологии опухоли на стадиях ее развития. Наблюдаемые изменения в содержании растворимых форм зонулина в сыворотке крови больных раком яичников могут способствовать совершенствованию систем мониторинга клинического течения данного заболевания. Также следует отметить, что тканеспецифическая экспрессия клаудинов и зонулина может в перспективе позволить использовать эти белки в качестве терапевтических мишеней.

Выводы

1. Содержание зонулина в сыворотке крови больных раком яичников статистически значимо выше, чем в контрольной группе здоровых женщин, в то время как для клаудина-5 таких различий не выявлено.

2. Анализ ассоциации содержания зонулина и клаудина-5 в сыворотке крови больных раком яичников с клинико-морфологическими характеристиками заболевания показал, что повышение содержания зонулина в сыворотке крови ассоциировано с более распространенной стадией заболевания, большим размером первичной опухоли и наличием регионарных метастазов, в то время как для клаудина-5 значимых ассоциаций не наблюдали.

3. Не выявлено связи сывороточных уровней зонулина и клаудина-5 у больных раком яичников с прогнозом заболевания.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Tight junctions and human diseases / N. Sawada et al. // *Med. Electron Microscopy*. 2003. Vol. 36 (3). P. 147–156.
2. Intestinal permeability marker zonulin as a predictor of sarcopenia in chronic obstructive pulmonary disease / A. Karim et al. // *Respiratory Medicine*. 2021. Vol. 189. P. 106662.
3. Zonulin, inflammation and iron status in patients with early stages of chronic kidney disease / E. Lukaszyk et al. // *Intern. Urology and Nephrology*. 2018. Vol. 50 (1). P. 121–125.
4. Identification of putative serum glycoprotein biomarkers for human lung adenocarcinoma by multilectin affinity chromatography and LC-MS/MS / S. H. Heo et al. // *Proteomics*. 2007. Vol. 7 (23). P. 4292–4302.
5. Claudin-containing exosomes in the peripheral circulation of women with ovarian cancer / J. Li et al. // *BMC cancer*. 2009. Vol. 9. P. 244.
6. Bose C. K., Mukhopadhyay A. Claudin and ovarian cancer // *J. Of The Turkish-German Gynecological Assoc.* 2010. Vol. 11 (1). P. 48–54.
7. Claudin-1, -3 and -4 proteins and mRNA expression in benign and malignant breast lesions: a research study / A. M. Tokes et al. // *Breast Cancer Research*. 2005. Vol. 7 (2). P. 296–305.
8. Claudin-1 is a strong prognostic indicator in stage II colonic cancer: a tissue microarray study / M. B. Resnick et al. // *Modern Pathology*. 2005. Vol. 18 (4). P. 511–518.
9. Loss of the tight junction protein claudin 4 correlates with histological growth-pattern and differentiation in advanced gastric adenocarcinoma / S. K. Lee et al. // *Oncology Rep*. 2005. Vol. 13 (2). P. 193–199.
10. Large-scale serial analysis of gene expression reveals genes differentially expressed in ovarian cancer / C. D. Hough et al. // *Cancer Research*. 2000. Vol. 60 (22). P. 6281–6287.
11. Claudin-5 overexpression correlates with aggressive behavior in serous ovarian adenocarcinoma / M. Turunen et al. // *Anticancer Research*. 2009. Vol. 29 (12). P. 5185–5189.
12. Claudin-5 is associated with elevated TATI and CA125 levels in mucinous ovarian borderline tumors / R. Nissi et al. // *Anticancer Research*. 2015. Vol. 35 (2). P. 973–976.
13. Claudin-5, -7, and -18 suppress proliferation mediated by inhibition of phosphorylation of Akt in human lung squamous cell carcinoma / R. Akizuki et al. // *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research*. 2017. Vol. 1864 (2). P. 293–302.
14. Differences in expression patterns of the tight junction proteins, claudin 1, 3, 4 and 5, in human ovarian surface epithelium as compared to epithelia in inclusion cysts and epithelial ovarian tumours / Y. Zhu et al. // *Intern. J. of Cancer*. 2006. Vol. 118 (8). P. 1884–1891.
15. Differential gene expression profiles between tumor biopsies and short-term primary cultures of ovarian serous carcinomas: identification of novel molecular biomarkers for early diagnosis and therapy / E. Bignotti et al. // *Gynecologic Oncology*. 2006. Vol. 103 (2). P. 405–416.
16. Expression profile of tight junction protein claudin 3 and claudin 4 in ovarian serous adenocarcinoma with prognostic correlation / Y. L. Choi et al. // *J. of Histology & Histopathology*. 2007. Vol. 22 (11). P. 1185–1195.
17. Serum Zonulin in HBV-Associated Chronic Hepatitis, Liver Cirrhosis, and Hepatocellular Carcinoma / X. Wang et al. // *Disease Markers*. 2019. Aug. 14. P. 5945721.
18. Blood Serum Zonulin in Colorectal Cancer, Autoimmune Bowel Diseases, and Irritable Bowel Syndrome / N. E. Kushlinskii et al. // *Bul. of Experimental Biology and Medicine*. 2022. Vol. 173 (3). P. 376–379.
19. Evaluation of Zonulin Expression and Its Potential Clinical Significance in Glioblastoma / R. Repossi et al. // *Cancers (Basel)*. 2024. Vol. 16 (2). P. 356.