

Міністерство охорони здоров'я України

ДНТ «Львівський національний медичний університет імені Данила
Галицького»

Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису

Фернеза Северин Романович

УДК: 618.11-006.6-089.48-031:611.381-085.28:546.92

**Прогнозування чутливості до препаратів платини при
гіпертермічному внутрішньочеревному введенні у хворих з ІІС стадією
раку яєчників**

222 – медицина

22 – охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ С.Р. Фернеза

Науковий керівник: Володько Наталя Антонівна,
доктор медичних наук, професор.

Львів – 2026

Анотація

Фернеза С.Р. Прогнозування чутливості до препаратів платини при гіпертермічному внутрішньочеревному введенні у хворих з ІІС стадією раку яєчників.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина (22 – Охорона здоров'я). – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, Львів, 2026.

Дослідження виконано на кафедрі онкології і радіології ФПДО Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького на базі КНП ЛОР «Львівський державний онкологічний регіональний лікувально-діагностичний центр».

Рак яєчників (РЯ) є однією з найскладніших проблем сучасної онкогінекології та характеризується найвищим рівнем смертності серед злоякісних пухлин жіночої репродуктивної системи. Близько 70% випадків діагностуються на пізніх стадіях, коли пухлина вже поширена в черевній порожнині, що істотно обмежує можливості радикального лікування. Ця тенденція залишається незмінною вже понад півстоліття, хоча популяційні дані свідчать про поступове покращення віддалених результатів лікування раку яєчників упродовж останніх десятиліть. Зокрема, 5-річна відносна виживаність зросла з 34,2% у 1975 році до 42,1% у 1995 році, до 43,1% у 2000 році, до 45,8% у 2005 році, до 47,8% у 2010 році, до 51,7% у 2015 році та до 54,2% у 2020 році. Така позитивна динаміка виживаності зумовлена розвитком циторедуктивної хірургії, системної платиновмісної хіміотерапії, таргетного лікування з використанням антиангіогенної терапії та PARP-інгібіторів, впровадженням гіпертермічної внутрішньочеревної хіміотерапії (HIPEC). Незважаючи на ці досягнення стійкого вилікування у більшості пацієнтів з РЯ досягнути не вдається через схильність захворювання до рецидиву. У

приблизно 25% пацієток із ранніми стадіями та до 80% хворих із поширеним процесом у подальшому виникає рецидив, а очікувана тривалість життя після появи рецидиву не перевищує у середньому 12–18 місяців. Поява HIPEC розширила можливості комбінованого лікування РЯ в тому числі рецидивного. З 2019 р NCCN розглядає HIPEC як можливу опцію в лікуванні рецидивного раку яєчників, проте дотепер цей метод не прийнятий як стандарт ESGO і рекомендований для використання лише в клінічних дослідженнях, оскільки навіть при виконанні повторної циторедукції в повному об'ємі та проведенні протирецидивної хіміотерапії з використанням HIPEC дослідники стикаються з проблемою резистентності до хіміотерапії (платинорезистентності). Дана обставина зумовлює необхідність пошуку нових предиктивних маркерів чутливості до платиновмісної терапії в тому числі в режимі HIPEC та вдосконалення підходів до індивідуалізації лікування.

Формування резистентності до препаратів платини є складним багатокомпонентним процесом, до реалізації якого залучається низка механізмів, а саме зниження внутрішньоклітинної концентрації препарату, посилення активності систем детоксикації, підвищення активності механізмів репарації ДНК, пригнічення апоптозу, аутофагія, епітеліально-мезенхімальний перехід, а також вплив прозапального пухлинного мікрооточення, тощо. Водночас предиктивних маркерів, що оцінюють активність кожного з цих механізмів і відповідно дозволяють прогнозувати відповідь пухлини на хіміотерапію, доступних для клінічного використання, небагато. Саме тому метою даного дослідження було покращити результати комбінованого лікування хворих на рак яєчників шляхом пошуку предиктивних маркерів чутливості до платиновмісних режимів хіміотерапії, застосованої системно або внутрішньочеревно в гіпертермічному режимі.

Для досягнення мети було поставлено конкретні завдання, а саме оцінити прогностичне значення *BRCA1*-статусу пухлини, рівня TNF та експресії *miR-200a/miR-200c* у пацієток з РЯ щодо чутливості до системної та внутрішньочеревної гіпертермічної платиновмісної хіміотерапії; дослідити зв'язок *BRCA1*-статусу пухлини, рівня TNF та експресії *miR-200a/miR-200c* із традиційними факторами прогнозу, взаємозв'язок між собою та їхній вплив на виживаність. На основі отриманих результатів сформувані додаткові критерії відбору хворих до проведення НІПЕС.

Методи та матеріали. У дослідженні взяло участь 100 пацієток з РЯ (76 – проспективна когорта та 24 – ретроспективна когорта). Предметом дослідження були *BRCA1*-статус пухлини, плазмові рівні експресії мікроРНК родини *miR-200* (*miR-200a* та *miR-200c*), рівень TNF у плазмі крові. Методи дослідження: клінічні, морфологічні, імуногістохімічні, молекулярно-генетичні, статистичні.

Для лабораторного аналізу використовували плазму венозної крові та пухлинну тканину. Рівень експресії мікроРНК визначали методом RT-PCR у реальному часі, TNF – за допомогою біологічного тесту на клітинній лінії L929, а *BRCA1*-статус пухлини оцінювали імуногістохімічним методом. Лікування проводилося відповідно до чинних клінічних протоколів і включало циторедуктивні втручання, системну хіміотерапію паклітакселом і карбоплатином, а у частини пацієток – НІПЕС із використанням цисплатину при температурі 40-41 °С упродовж 90 хвилин. Для оцінки клінічної ефективності досліджуваних маркерів рівні *miR-200a* та *miR-200c* порівнювали з виживаністю, чутливістю до хіміотерапії, стадією захворювання та морфологічними особливостями пухлини. Додатково аналізували їх можливий зв'язок із TNF і *BRCA1*-статусом.

Результати. Предиктивне клінічне значення *BRCA1*-статусу для прогнозування ефективності НІПЕС було проаналізовано в підгрупі з 24

пацієнок із серозним високозлоякісним раком яєчників, яким проводилося комбіноване лікування рецидивного РЯ з використанням НІПЕС. Мутацію *BRCA1* виявлено в даній підгрупі у 21 випадку. Встановлено тенденцію до кращої загальної виживаності у хворих із мутацією *BRCA1*, а саме $15,5 \pm 5,7$ міс (95% СІ 4,3-26,7), без соматичної мутації гену *BRCA1* – $12 \pm 3,3$ міс (95% СІ 5,6-18,4), $p=0,08$. Однак при підгруповому аналізі залежно від результатів повноти циторедукції після виділення пацієнок із повною циторедукцією (CC-0/CC-1) статистично значущі відмінності стали очевидними. У цій підгрупі медіана загальної виживаності за наявності соматичної мутації *BRCA1* становила $22 \pm 4,8$ міс (95% СІ 12,5–31,5), тоді як у пацієнок без мутації – $12 \pm 3,3$ міс (95% СІ 5,6–18,4), $p=0,047$. Це підтверджує клінічну значущість *BRCA1*-статусу як маркера чутливості до платиновмісного лікування, зокрема в умовах НІПЕС після оптимальної циторедукції.

Щодо вивчення предиктивної ролі мікроРНК, то після проведеного літературного аналізу нами було виділено мікроРНК родини 200, що мають найбільший потенціал для клінічного застосування, зокрема обрано *miR-200a* та *miR-200c* як найбільш клінічно валідовані та біологічно релевантні. В нашому дослідженні проаналізовано рівні експресії мікро-РНК в 61 пацієнтки з РЯ. В результаті виявлено статистично достовірний зв'язок між експресією *miR-200c* та тривалістю виживання пацієнок з раком яєчників: вища експресія *miR-200c* була характерною для хворих із тривалим виживанням понад 8 років після встановлення діагнозу ($p=0,010$). При подальшому аналізі за допомогою ROC-кривої площа під кривою становила 0,75, а модель виявилася статистично значущою, що свідчить про позитивну прогностичну цінність *miR-200c* щодо виживаності. Водночас статистично значущих асоціацій між рівнем експресії мікроРНК та гістологічним підтипом пухлини (для *miR-200a* $p=0,282$ (11.47 ± 43.23) та $p=0,701$ (2.37 ± 4.14) для *miR-200c*), а також чітких відмінностей між групами з різною чутливістю до системної хіміотерапії не встановлено.

При аналізі результатів НІПЕС виявлено тенденцію до зниження ризику події у пацієток із високими рівнями експресії miR-200c та miR-200a; за моделлю пропорційних ризиків Кокса НІПЕС демонстрував тренд до зменшення ризику прогресування або смерті (HR 0,21; 95% CI 0,03–1,60; $p=0,131$), що вказує на потенційну клінічну користь методу в окремих молекулярно визначених підгрупах хворих. Водночас серед досліджених мікроРНК переконливе прогностичне значення було підтверджено насамперед для miR-200c, тоді як для miR-200a достовірних результатів отримано не було.

Під час аналізу взаємозв'язків між досліджуваними молекулярними маркерами не виявлено статистично достовірної залежності між експресією miR-200a/miR-200c та BRCA1-статусом пухлини ($p=0,48$ для miR-200a та $p=0,53$ для miR-200c). Також не встановлено достовірного кореляційного зв'язку між рівнями мікроРНК родини miR-200 і TNF плазми крові – коефіцієнт кореляції Спірмена становить 0,00748, що свідчить про дуже слабку позитивну кореляцію між двома змінними, $p=0,954$ для miR-200a і TNF та відповідно $-0,0346$ і $p=0,791$ для miR-200c і TNF.

Сам рівень TNF не продемонстрував статистично значущого впливу на прогнозування чутливості до препаратів платини при проведенні НІПЕС та не мав самостійної прогностичної цінності щодо виживаності пацієток після циторедуктивного втручання й внутрішньочеревної гіпертермічної хіміотерапії, хоч і демонстрував позитивну тенденцію – високий рівень TNF у плазмі крові мав асоціацію з вищою виживаністю (HR 0.36, 95% CI 0.11–1.13, $p=0.08$).

Таким чином, за результатами роботи серед досліджених молекулярних маркерів клінічну ефективність підтвердили BRCA1-статус пухлини та експресія miR-200c. Високий рівень miR-200c асоціюється з тривалішим виживанням пацієток з раком яєчників і може розглядатися як потенційний прогностичний маркер. BRCA1-статус пухлини має значення для

прогнозування ефективності HIPEC після циторедуктивних втручань. Натомість предиктивна цінність miR-200a та рівня TNF у плазмі крові в межах даного дослідження не була підтверджена. Отримані результати дають підстави розглядати BRCA1-статус і miR-200c як перспективні критерії селекції пацієток для персоналізованого застосування платиновмісної терапії, у тому числі HIPEC, при ІІС стадії раку яєчників.

Наукова новизна. Уперше встановлено зв'язок між рівнем експресії miR-200c і тривалістю виживання пацієток із раком яєчників, а також показано, що висока експресія цього маркера асоціюється з кращими показниками виживання, що свідчить про його потенційну прогностичну цінність. Виявлено тенденцію до зв'язку між рівнем експресії мікроРНК родини miR-200 та виживаністю пацієток при застосуванні HIPEC, встановлено клінічну значущість *BRCA1*-статусу пухлини для прогнозування ефективності цього методу, а також доведено відсутність статистично значущого зв'язку між рівнями досліджуваних мікроРНК і *BRCA1*-статусом. Додатково оцінено взаємозв'язок між експресією мікроРНК родини miR-200 та рівнем TNF у плазмі крові, що розширює уявлення про можливу роль цих показників у механізмах запальної відповіді та прогресії пухлинного процесу.

Практичне значення. Рекомендовано встановити алгоритм обстеження для пацієток з РЯ: оцінити PCI перед початком лікування з метою оцінки можливості досягнення повноти циторедукції (CC0-CC1); Забір крові для визначення рівня мікроРНК: варто проводити до початку лікування РЯ, забір крові проводити з інтактною вени, 5 мл крові достатньо для проведення аналізу; Тестування рівень експресії мікроРНК проводити за допомогою методу PCR-RT; miR-200c використовувати як прогностичний маркер для пацієток з РЯ; *BRCA1*-статус РЯ використовувати з метою прогнозування ефективності HIPEC

Публікації: за темою дисертаційної роботи опубліковано 5 наукових праць, з них 3 статей, 3 з яких у журналах, що індексуються в міжнародних наукометричних базах Scopus, 2 тез у збірниках наукових праць, матеріалах і тезах конференцій.

Ключові слова: рак яєчників, новоутвори яєчника, злоякісні новоутворення жіночої репродуктивної системи, BRCA1, TNF, чутливість до хіміотерапії, препарати платини, мікроРНК, прогнозування відповіді на терапію, HIPEC.

Abstract

Fernesa S.R. Prediction of Sensitivity to Platinum-Based Drugs in Hyperthermic Intraperitoneal Administration in Patients with Stage III Ovarian Cancer.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 222 – Medicine (22 – Healthcare). – Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2026.

The study was carried out at the Department of Oncology and Radiology of the Faculty of Postgraduate Education of Danylo Halytsky Lviv National Medical University on the basis of the Lviv Regional Clinical Oncology Center, a municipal non-profit enterprise of the Lviv Regional Council, during 2019–2023.

Ovarian cancer (OC) is one of the most challenging problems in modern gynecologic oncology and is characterized by the highest mortality rate among malignant tumors of the female reproductive system. About 70% of cases are diagnosed at advanced stages, when the tumor has already spread within the abdominal cavity, which significantly limits the possibilities of radical treatment. This trend has remained unchanged for more than half a century, although population data indicate a gradual improvement in long-term treatment outcomes for ovarian cancer over recent decades. In particular, the 5-year relative survival rate

increased from 34.2% in 1975 to 42.1% in 1995, 43.1% in 2000, 45.8% in 2005, 47.8% in 2010, 51.7% in 2015, and 54.2% in 2020. This positive survival trend is attributable to advances in cytoreductive surgery, systemic platinum-based chemotherapy, targeted treatment with anti-angiogenic therapy and PARP inhibitors, and the introduction of hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC). Despite these achievements, durable cure in most patients with OC remains unattainable because of the disease's tendency to recur. Approximately 25% of patients with early-stage disease and up to 80% of those with advanced disease subsequently develop recurrence, and the expected survival after recurrence does not exceed 12–18 months on average. The advent of HIPEC has expanded the possibilities of combined treatment of ovarian cancer, including recurrent disease. Since 2019, the NCCN has considered HIPEC a possible option in the treatment of recurrent ovarian cancer; however, to date this method has not been accepted as an ESGO standard and is recommended only for use in clinical trials, because even after complete repeat cytoreduction and anti-relapse chemotherapy with HIPEC, researchers still face the problem of chemotherapy resistance (platinum resistance). This circumstance necessitates the search for new predictive markers of sensitivity to platinum-based therapy, including HIPEC, and the improvement of approaches to individualized treatment.

The development of resistance to platinum agents is a complex multicomponent process involving a number of mechanisms, namely decreased intracellular drug concentration, enhanced activity of detoxification systems, increased activity of DNA repair mechanisms, inhibition of apoptosis, autophagy, epithelial–mesenchymal transition, and the influence of a pro-inflammatory tumor microenvironment, among others. At the same time, there are few predictive markers available for clinical use that assess the activity of each of these mechanisms and thus enable prediction of tumor response to chemotherapy. Therefore, the aim of this study was to improve the results of combined treatment in patients with ovarian cancer by identifying predictive markers of sensitivity to platinum-based

chemotherapy administered systemically or intraperitoneally in a hyperthermic mode.

To achieve this aim, the following objectives were set: to assess the prognostic significance of tumor BRCA1 status, TNF level, and miR-200a/miR-200c expression in patients with OC regarding sensitivity to systemic and intraperitoneal hyperthermic platinum-based chemotherapy; to investigate the association of tumor BRCA1 status, TNF level, and miR-200a/miR-200c expression with traditional prognostic factors, their interrelationships, and their impact on survival; and, based on the obtained results, to formulate additional criteria for selecting patients for HIPEC.

Materials and methods. The study included 100 patients with ovarian cancer (76 in the prospective cohort and 24 in the retrospective cohort). The subjects of the study were tumor BRCA1 status, plasma expression levels of miR-200 family microRNAs (miR-200a and miR-200c), and plasma TNF level. The following methods were used: clinical, morphological, immunohistochemical, molecular genetic, and statistical.

Venous blood plasma and tumor tissue were used for laboratory analysis. MicroRNA expression levels were determined by real-time RT-PCR, TNF by a biological assay on the L929 cell line, and tumor BRCA1 status by immunohistochemistry. Treatment was carried out in accordance with current clinical protocols and included cytoreductive surgery, systemic chemotherapy with paclitaxel and carboplatin, and in some patients HIPEC with cisplatin at 40–41 °C for 90 minutes. To assess the clinical effectiveness of the studied markers, miR-200a and miR-200c expression levels were compared with survival, chemotherapy sensitivity, disease stage, and tumor morphological features. Their possible associations with TNF and BRCA1 status were also analyzed.

Results. The predictive clinical significance of BRCA1 status for forecasting HIPEC efficacy was analyzed in a subgroup of 24 patients with high-grade serous ovarian cancer who underwent combined treatment for recurrent ovarian cancer with HIPEC. BRCA1 mutation was detected in 21 cases in this subgroup. A trend toward better overall survival was found in patients with BRCA1 mutation, namely 15.5 ± 5.7 months (95% CI 4.3–26.7), versus 12 ± 3.3 months (95% CI 5.6–18.4) in patients without somatic BRCA1 mutation, $p=0.08$. However, in subgroup analysis according to the completeness of cytoreduction, after isolating patients with complete cytoreduction (CC-0/CC-1), statistically significant differences became evident. In this subgroup, the median overall survival in the presence of somatic BRCA1 mutation was 22 ± 4.8 months (95% CI 12.5–31.5), whereas in patients without mutation it was 12 ± 3.3 months (95% CI 5.6–18.4), $p=0.047$. This confirms the clinical significance of BRCA1 status as a marker of sensitivity to platinum-based treatment, particularly in the setting of HIPEC after optimal cytoreduction.

As for the predictive role of microRNAs, after conducting a literature review we identified the miR-200 family as having the greatest potential for clinical application, in particular miR-200a and miR-200c as the most clinically validated and biologically relevant. In our study, microRNA expression levels were analyzed in 61 patients with ovarian cancer. A statistically significant association was found between miR-200c expression and survival duration in patients with ovarian cancer: higher miR-200c expression was characteristic of patients with long-term survival of more than 8 years after diagnosis ($p=0.010$). In subsequent ROC curve analysis, the area under the curve was 0.75, and the model was statistically significant, indicating positive prognostic value of miR-200c for survival. At the same time, no statistically significant associations were found between microRNA expression levels and tumor histological subtype (for miR-200a, $p=0.282$ [11.47 ± 43.23], and for miR-200c, $p=0.701$ [2.37 ± 4.14]), nor were clear differences found between groups with different sensitivity to systemic chemotherapy.

Analysis of HIPEC outcomes revealed a trend toward reduced event risk in patients with high expression levels of miR-200c and miR-200a; according to the Cox proportional hazards model, HIPEC showed a trend toward reduction in the risk of progression or death (HR 0.21; 95% CI 0.03–1.60; $p=0.131$), suggesting potential clinical benefit of this method in certain molecularly defined subgroups of patients. However, among the studied microRNAs, convincing prognostic significance was confirmed primarily for miR-200c, whereas no significant results were obtained for miR-200a.

During analysis of interrelationships between the investigated molecular markers, no statistically significant association was found between miR-200a/miR-200c expression and tumor BRCA1 status ($p=0.48$ for miR-200a and $p=0.53$ for miR-200c). Likewise, no significant correlation was found between miR-200 family microRNA levels and plasma TNF levels: Spearman's correlation coefficient was 0.00748, indicating a very weak positive correlation between the two variables, $p=0.954$ for miR-200a and TNF, and -0.0346 with $p=0.791$ for miR-200c and TNF, respectively.

TNF level itself did not demonstrate a statistically significant effect on predicting sensitivity to platinum agents during HIPEC and had no independent prognostic value for survival after cytoreductive surgery and intraperitoneal hyperthermic chemotherapy, although it showed a positive trend: a high plasma TNF level was associated with better survival (HR 0.36, 95% CI 0.11–1.13, $p=0.08$).

Thus, according to the study results, the molecular markers that demonstrated clinical utility were tumor BRCA1 status and miR-200c expression. A high level of miR-200c is associated with longer survival in patients with ovarian cancer and may be considered a potential prognostic marker. Tumor BRCA1 status is important for predicting the effectiveness of HIPEC after cytoreductive surgery. In contrast, the predictive value of miR-200a and plasma TNF level was not confirmed within this study. The obtained results provide grounds for considering BRCA1 status and miR-

200c as promising criteria for selecting patients for personalized platinum-based therapy, including HIPEC, in stage IIIIC ovarian cancer.

Scientific novelty. For the first time, an association was established between the level of miR-200c expression and survival duration in patients with ovarian cancer, and it was shown that high expression of this marker is associated with better survival, indicating its potential prognostic value. A trend toward an association between miR-200 family expression levels and patient survival during HIPEC was identified; the clinical significance of tumor BRCA1 status for predicting the effectiveness of this method was established; and the absence of a statistically significant relationship between the levels of the studied microRNAs and BRCA1 status was demonstrated. In addition, the relationship between miR-200 family microRNA expression and plasma TNF level was assessed, expanding current understanding of the possible role of these indicators in the mechanisms of inflammatory response and tumor progression.

Practical significance. It is recommended to establish an examination algorithm for patients with ovarian cancer: assess PCI before treatment initiation in order to evaluate the possibility of achieving complete cytoreduction (CC0–CC1); collect blood for microRNA level determination before the start of treatment, using an intact vein, with 5 mL of blood being sufficient for analysis; test microRNA expression levels using RT-PCR; use miR-200c as a prognostic marker in patients with ovarian cancer; and use BRCA1 status of ovarian cancer to predict HIPEC effectiveness.

Publications: 5 scientific works have been published on the topic of the dissertation, including 3 articles, all 3 of which were published in journals indexed in the international scientometric databases Scopus, and 2 abstracts published in collections of scientific papers, conference proceedings, and abstract books.

Key words: ovarian cancer, ovarian neoplasms, malignant neoplasms of the female reproductive system, BRCA1, TNF, chemotherapy sensitivity, platinum agents, microRNA, prediction of therapy response, HIPEC.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Yarema, R., Ferneza, S. and Fetsych, T., 2021. HIPEC в комбінованому лікуванні інтраперитонеально дисемінованого раку: моноцентровий досвід проведення 215 операцій. Клінічна онкологія. 2021 Jul 09. DOI: 10.32471/clinicaloncology.2663-466X.41-1.27758
(Здобувач проводив збір матеріалу, брав участь у клінічних дослідженнях, статистичному аналізі, опрацюванні та узагальненні отриманих даних, сформулював висновки роботи та підготував статтю до друку. Співавтори надавали консультативну допомогу).
2. Ferneza S, Fetsych M, Shuliak R, Makukh H, Volodko N, Yarema R, Fetsych T. Clinical significance of microRNA-200 and let-7 families expression assessment in patients with ovarian cancer. *ecancer*. 2021 Jun 14; 15 (1249). DOI: 10.3332/ecancer.2021.1249, Q3
3. Fetsych M, Igumentseva N, Ferneza S, Yarema R, Volodko N. CYTOKINE-MODULATING INFLUENCE OF HIPEC ON THE INTRAPERITONEAL HOMEOSTASIS FORMATION IN PATIENTS WITH OVARIAN CANCER. *Proceeding Shevchenko Sci Soc Med Sci*. 22, Грудень 2023;72.
4. Hrytsay I, Mazur Y, Ferneza S, Sulaieva O, Volodko N. IMPLEMENTATION OF MOLECULAR PROFILING IN THE DIAGNOSIS AND TREATMENT PLANNING OF PATIENTS WITH ADVANCED OVARIAN CANCER. *Proceeding Shevchenko Sci Soc Med Sci*. 28, Червень 2024;73(1).

Наукові праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

- Фернеза С.Р., Володько Н.А. «Клінічні аспекти визначення експресії родини мікроРНК-200 у пацієток з раком яєчників». Науково-практична конференція з міжнародною участю: «Гнатишаківські читання 2022: мультидисциплінарний підхід в комбінованому лікуванні раку яєчників», 25-26 лютого 2022 (стендова доповідь)

- С.Р. Фернеза, Р.Р. Ярема, Г.В. Макух, Н.А. Володько. «Клінічні аспекти визначення експресії сімейств мікроРНК-200 та let-7 у пацієнок з раком яєчників». Науково-практична конференція молодих вчених «Сучасна онкологія: від фундаментальних досліджень до нових терапевтичних підходів», т.23 4 2021 12-13 жовтня 2021, Київ (публікація тез)

ЗМІСТ

| | |
|---|-----------|
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ | 20 |
| ВСТУП | 22 |
| РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ. СУЧАСНІ ВИКЛИКИ У ЛІКУВАННІ РАКУ ЯЄЧНИКІВ | 31 |
| 1.1. Епідеміологія, виживаність при раку яєчників, актуальність питання .. | 31 |
| 1.2. Гістологічні підтипи раку яєчників..... | 33 |
| 1.3 Патогістологічна та молекулярно-генетична оцінка пухлини | 35 |
| 1.4 Принципи комбінованого лікування пацієток з раком яєчника..... | 38 |
| 1.5 Гіпертермічна інтрачеревна хіміоперфузія (HIPEC) | 47 |
| 1.6 Формування хіміорезистентності пухлини | 52 |
| 1.6.1 Хіміорезистентність пухлин | 52 |
| 1.6.2 Платинорезистентність | 59 |
| 1.6.3 TNF | 68 |
| 1.6.4 Роль TNF у формуванні хіміорезистентності пухлин | 72 |
| 1.7 Механізми подолання резистентності пухлин | 76 |
| 1.8 Експресія мікроРНК при раку яєчників | 79 |
| 1.8.1 Загальні відомості про мікроРНК | 79 |
| 1.8.2 Практична цінність визначення експресії мікроРНК родини 200..... | 84 |
| 1.8.2.1 Родина мікроРНК 200 | 84 |
| 1.8.2.2 Родина мікроРНК let-7 | 94 |
| 1.8.3. Вплив мікроРНК на чутливість до хіміотерапії через регуляцію експресії генів | 97 |
| 1.8.3.1 Родина мікроРНК 200 | 97 |
| 1.8.3.2 Родина мікроРНК let-7 | 100 |
| 1.8.4 Роль позаклітинної мікроРНК як предиктивного і прогностичного маркера | 102 |

| | |
|-------------------------------------|-----|
| 1.8.4.1 Родина мікроРНК 200 | 102 |
| 1.8.4.2 Родина мікроРНК let-7 | 108 |

РОЗДІЛ 2. КЛІНІЧНИЙ МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ112

| | |
|---|-----|
| 2.1 Загальна характеристика та дизайн дослідження | 112 |
| 2.2 Методи дослідження | 115 |
| 2.2.1 Клініко-лабораторні методи | 115 |
| 2.2.2 Інструментальні методи | 116 |
| 2.2.3 Морфологічне обстеження пухлин яєчника | 117 |
| 2.2.4 Виділення та аналіз мікроРНК | 118 |
| 2.2.5 Визначення статусу BRCA1 | 120 |
| 2.2.6 Визначення рівня TNF у плазмі крові | 121 |
| 2.3 Методи лікування | 122 |
| 2.4. Статистичний обрахунок | 126 |
| 2.5 Пацієнти | 127 |

РОЗДІЛ 3. МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ ТА КЛІНІЧНІ ПРЕДИКТОРИ ЧУТЛИВОСТІ ДО ПРЕПАРАТІВ ПЛАТИНИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ КРИТЕРІЇВ ВІДБОРУ ПАЦІЄНТОК З РАКОМ ЯЄЧНИКА ДЛЯ НІРЕС 129 |

| | |
|---|-----|
| 3.1 Вивчення потенційного прогностичного впливу статусу гену BRCA1 у хворих на РЯ при комбінованому лікуванні..... | 131 |
| 3.2 Оцінка клінічної значимості прозапальних цитокінів для прогнозування чутливості до препаратів платини ... | 134 |
| 3.3 Оцінка впливу мікроРНК на карциногенез РЯ | 136 |
| 3.4 Оцінка клінічної значимості рівнів мікроРНК крові на прогнозування чутливості до препаратів платини | 140 |
| 3.5 Оцінка взаємозв'язку молекулярних маркерів як незалежних факторів прогнозу перебігу РЯ | 149 |

3.6 Аналіз додаткових критеріїв селекції пацієнок з РЯ до проведення процедури НІРЕС157

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ 162

ВИСНОВКИ 174

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ 176

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ 177

ДОДАТКИ 226

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

РЯ - рак яєчників

ТВД – трансвагінальний датчик

STIC – serous tubar intraepithelial carcinoma (серозна тубарна інтраепітеліальна карцинома)

RRSO – risk-reducing salpingo-oophorectomy (ризик-редуюча сальпінго-оваректомія)

FIGO – International Federation of Gynecology and Obstetrics

MSI – microsatellite instability (мікросателітна нестабільність)

MMR – mismatch repair (репарація помилково спарених нуклеотидів)

TNF – tumor necrosis factor (чинник некрозу пухлини)

RANK – receptor activator of nuclear factor (ядерний транскрипційний фактор карра В)

NF-κB – nuclear factor карра В (ядерний фактор карра В)

CD40 – cluster of differentiation 40 (кластер диференціації 40)

TMB – tumor mutation burden (рівень мутаційного навантаження пухлини)

HRD – homologous recombination deficiency (дефіцит гомологічної рекомбінації)

NHEJ – nonhomologous end joining (негомологічне з'єднання кінців)

SLC – solute carrier superfamily (надродина переносників розчиненої речовини)

OCT – organic cation transporters (переносники органічних катіонів)

CTR1 – copper transporter 1 (переносник міді 1)

MRP – multidrug resistant protein (протеїн мультирезистентности)

HIFs – hypoxia-inducible factors (гіпоксично-індукованих факторів)

SNV – non-silent coding single nucleotide variants (неконтрольні кодуючі одонуклеотидні варіанти)

miR – microRNA (мікроРНК)

DTSIC – Delta Treatment Score

PCI – перитонеальний індекс карциноматозу (peritoneal cancer index)
CC – ступінь повноти циторедукції (completeness of cytoreduction score)
GSH – L-γ-глутаміл-l-цистеїніл-гліцин
ctDNA – циркулююча пухлинна ДНК (circulating tumor DNA)
PARP – полі (АДФ-рибозо) полімерази
IGF-II – інсуліноподібний фактор росту 2
MAPK14 – мітоген-активуююча протеїнкіназа 14
GST-π – глутатіон S-трансфераза-π
PSMD4 – 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 4
БВ – безрецидивна виживаність
ЗВ – загальна виживаність
ЕМП – епітеліально-мезенхімальний перехід
МЕП – мезенхімально-епітеліальний перехід
мікроРНК – мікрорибонуклеїнова кислота
ТКІ – інгібітори тирозин-кінази (tyrosine-kinase inhibitors)
ТАМ - пухлинно-асоційовані макрофаги

ВСТУП

Рак яєчників (РЯ) залишається однією з найсерйозніших проблем сучасної онкогінекології, характеризуючись високою агресивністю та летальністю, займаючи 3-є місце серед онкогінекологічних нозологій у світі [1]. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), у 2020 році у світі було діагностовано понад 313 тисяч нових випадків РЯ, і понад 207 тисяч жінок померли від цієї хвороби [2]. В Україні, за даними Національного канцер-реєстру, у 2021 році було зареєстровано 1435 нових випадків РЯ, та 925 жінок померли від цієї хвороби [3].

Через безсимптомний перебіг більшість випадків РЯ діагностуються на пізній стадії, коли 5-річна виживаність не перевищує 29%, натомість рання діагностика (на I стадії) забезпечує 5-річну виживаність на рівні 92% [1,4]. Загальна 5-річна виживаність при РЯ становить 45-47% [4]. При цьому ризик рецидиву є високим та становить 20-25% на I-II стадіях та сягає 70% на поширених стадіях (III-IV). Близько 25% рецидивів РЯ спостерігається протягом 6 місяців від завершення первинного лікування [5]. Для пацієток з рецидивним РЯ прогноз здебільшого є несприятливим. Медіана виживаності після рецидиву становить близько 2 років [6].

Основними методами лікування раку яєчників є хірургічне втручання та хіміотерапія з використанням препаратів платини, таких як цисплатин та карбоплатин у поєднанні з паклітакселом. Проте, навіть при успішному первинному лікуванні, у багатьох пацієток розвивається рецидив захворювання, часто пов'язаний з розвитком хіміорезистентності до платиновмісних препаратів [7], що призводить до рецидивів та погіршення прогнозу.

Хіміорезистентність до препаратів платини є серйозною проблемою в лікуванні РЯ. За різними даними, від 60% до 80% пацієток з РЯ, які

отримують хіміотерапію першої лінії, з часом розвивають резистентність до платини [8]. Це призводить до зниження ефективності лікування, прогресування захворювання та погіршення прогнозу.

Розвиток хіміорезистентності до платини є складним багатофакторним процесом, в якому задіяні різні механізми, включаючи зміни в транспорті препаратів, активацію механізмів репарації ДНК, зміни в експресії генів, що регулюють апоптоз, та інші [9]. Вивчення цих механізмів є критично важливим для розробки нових стратегій подолання хіміорезистентності та підвищення ефективності лікування РЯ. Режим гіпертермічної інтрачеревної хіміоперфузії (НІРЕС) створює додаткові умови для подолання платинорезистентності, зокрема створює надвисокі концентрації препарату у тканині на глибині 1 мм, додаючи термічний вплив на клітини [10]. Водночас описано мало предиктивних маркерів, які б дозволили оптимізувати відбір пацієнтів для цього методу лікування.

Таким чином, пошук нових біомаркерів, які дозволять прогнозувати відповідь РЯ на хіміотерапію в режимі НІРЕС та розробити індивідуалізовані підходи до лікування, є надзвичайно важливим завданням сучасної онкології.

Останнім часом велика увага приділяється вивченню ролі мікроРНК у розвитку хіміорезистентності при РЯ. МікроРНК є невеликими некодуючими молекулами РНК, які регулюють експресію генів на посттранскрипційному рівні. Показано, що мікроРНК можуть впливати на різні аспекти розвитку пухлини, включаючи проліферацію, апоптоз, метастазування та хіміорезистентність [11]. Особливий інтерес представляє родина мікроРНК 200, зокрема miR-200a та miR-200c. Згідно даних літератури, мікроРНК родини 200 відіграють важливу роль у регуляції епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП), процесу, який пов'язаний з розвитком хіміорезистентності при РЯ [12]. ЕМП характеризується втратою клітинами епітеліальних

властивостей та набуттям мезенхімальних властивостей, що сприяє міграції та інвазії пухлинних клітин, а також розвитку хіміорезистентності.

Дослідження показали, що мікроРНК родини 200 можуть пригнічувати ЕМП, зменшуючи тим самим хіміорезистентність до платини при РЯ. З іншого боку, зниження експресії мікроРНК родини 200 може сприяти розвитку хіміорезистентності. Вивчення механізмів, за допомогою яких мікроРНК родини 200 впливають на хіміорезистентність при РЯ, є важливим для розробки нових терапевтичних стратегій.

Крім того, мутації в генах BRCA1 та BRCA2 є відомими факторами ризику розвитку раку яєчників [13] та впливають на чутливість пухлин до хіміотерапії. Пацієнтки з мутаціями BRCA часто демонструють кращу відповідь на препарати платини, однак розвиток резистентності залишається серйозною проблемою. Взаємозв'язок між експресією мікроРНК-200 та BRCA-статусом пухлини досі недостатньо вивчений, що підкреслює необхідність подальших досліджень у цьому напрямку.

Окрім впливу на ЕМП, мікроРНК родини 200 також можуть впливати на рівень фактора некрозу пухлини (TNF), який є одним з ключових медіаторів запалення та може відігравати роль у розвитку та прогресуванні РЯ. Наприклад, у дослідженні Zhang et al. було показано, що miR-200 може пригнічувати експресію TNF- α в клітинах раку молочної залози [14]. Проте, механізми, за якими TNF та інші фактори мікрооточення пухлини регулюються мікроРНК та, відповідно, потенційний вплив такої взаємодії на розвиток раку яєчників є недостатньо вивченими та потребують подальшого дослідження.

Таким чином, дослідження впливу мікроРНК на рівень TNF у контексті раку яєчників є відносно новою та перспективною областю досліджень. Подальші дослідження в цьому напрямку можуть призвести до значних

досягнень у розумінні патогенезу раку яєчників та розробці нових методів його лікування.

Ураховуючи вищезазначене, дане дослідження спрямоване на вивчення ролі мікроРНК родини 200, зокрема miR-200a та miR-200c, BRCA-статусу РЯ та рівня TNF у крові та пухлинній тканині пацієток з РЯ у прогнозуванні чутливості до хіміотерапії препаратами платини у пацієток з раком яєчників, як системного застосування, так і під час проведення НІПЕС. Оцінка рівня експресії мікроРНК, TNF та BRCA-статусу може стати основою для розробки стандартів використання нових діагностичних біомаркерів, які дозволять індивідуалізувати терапію та покращити результати лікування пацієток з даною патологією.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота проведена у ДНТ «Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького» та є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри онкології та радіології факультету післядипломної освіти цієї установи у 2022-2026рр. «Персоніфікація лікування первинних та рецидивних хворих з раком травного тракту, дихальної, сечостатевої системи і грудних залоз різних вікових категорій на основі клініко-морфологічних та молекулярних факторів прогнозу», державний реєстраційний номер №0122U000167.

Мета дослідження – покращити результати комбінованого лікування хворих на рак яєчників шляхом пошуку предиктивних маркерів чутливості до платиномісних режимів хіміотерапії, застосованих шляхом системного або внутрішньочеревного введення з гіпертермією (НІПЕС)

Завдання дослідження:

- Дослідити вплив BRCA-статусу пухлини на відповідь на внутрішньочеревну гіпертермічну та системну платиновмісну хіміотерапію
- Оцінити зв'язок між рівнем протизапальних цитокінів плазми крові, зокрема TNF, та відповіддю на платиновмісну хіміотерапію при гіпертермічному внутрішньочеревному та системному режимах застосування
- Дослідити зв'язок між рівнем експресії мікроРНК miR-200a та miR-200c у плазмі крові та традиційними факторами прогнозу при РЯ (стадія, морфологічний варіант пухлини)
- Дослідити вплив плазмових рівнів мікроРНК miR-200a та miR-200c на чутливість до платиновмісної системної та гіпертермічної внутрішньочеревної хіміотерапії
- Визначити зв'язок між рівнем експресії мікроРНК, BRCA-статусом пухлини, плазмовими рівнями TNF у хворих на РЯ
- На основі аналізу виживання та молекулярних предиктивних факторів сформувані додаткові критерії селекції хворих на РЯ до внутрішньочеревної хіміотерапії в гіпертермічному режимі

Об'єкт дослідження – 100 пацієток (в тому числі 24 пацієтки з ретроспективної когорти) з раком яєчників ІІС стадії, які проходили лікування із застосуванням хіміотерапії (системної та інтраперитонеальної) препаратами платини.

Предмет дослідження – виживаність пацієток після застосування системної хіміотерапії, циторедуктивної хірургії та внутрішньочеревної гіпертермічної хіміоперфузії.

Методи дослідження

- 1. Клінічне спостереження** – аналіз анамнестичних та клінічних даних пацієнток.
- 2. Молекулярно-біологічні методи** – виділення мікроРНК з плазми крові, проведення real-time PCR для оцінки рівня експресії miR-200a та miR-200c.
- 3. Морфологічне дослідження пухлинного матеріалу** – встановлення гістологічного підтипу РЯ
- 4. Імуно-гістохімічний аналіз** – визначення BRCA1-статусу пухлинної тканини.
- 5. Отримання клітинних культур та визначення експресії TNF у плазмі крові** – оцінка рівня TNF у плазмі крові як можливого маркера запальної відповіді.
- 6. Методи лікування** – системна хімотерапія, циторедуктивна операція, .
- 7. Оцінка результатів лікування** – оцінка чутливості до хімотерапії, оцінка тривалості виживання.
- 8. Статистичний аналіз** – кореляція рівня експресії мікроРНК з клінічними параметрами, виживаністю та відповіддю на хімотерапію (логістична регресія з побудовою ROC-кривих; кореляційний аналіз Спірмена; аналіз Мана-Уїтні; аналіз Краскела-Уолліса), метод Каплана-Масра.

Наукова новизна

- Вперше встановлено зв'язок між рівнем експресії miR-200c і тривалістю виживання пацієнток із раком яєчників.
- Показано, що висока експресія miR-200c асоціюється з кращими показниками виживання, що свідчить про потенційну прогностичну цінність цього маркера для оцінки ефективності лікування.
- Виявлено тенденцію до зв'язку між рівнем експресії мікроРНК родини miR-200 та виживаністю пацієнток при застосуванні методики HIPEC.

- Встановлено клінічну значущість визначення BRCA-статусу пухлини для прогнозування клінічної ефективності HIPEC у пацієток із раком яєчників.
- Доведено відсутність статистично значущого зв'язку між рівнями досліджуваних мікроРНК та BRCA1-статусом пухлини.
- Оцінено кореляційний зв'язок між експресією мікроРНК родини miR-200 та рівнем TNF у плазмі крові, що розширює уявлення про можливу роль цих показників у механізмах запальної відповіді та прогресії пухлинного процесу.
- Обґрунтовано перспективність використання досліджуваних молекулярних маркерів для вдосконалення підходів до персоналізованого прогнозування та лікування пацієток із раком яєчників.

Теоретичне значення отриманих результатів.

- Проведено комплексне вивчення молекулярних маркерів прогнозу при раку яєчників з оцінкою їх клінічного значення для персоналізації лікувальної тактики, зокрема при застосуванні платиновмісної хіміотерапії та HIPEC.
- Отримані результати дозволили встановити статистично достовірний зв'язок між підвищеним рівнем експресії miR-200c і тривалішим виживанням пацієток, що дає підстави розглядати дану мікроРНК як потенційний прогностичний маркер та свідчить про її ймовірну онкосупресивну роль у патогенезі раку яєчників.
- Таким чином, дослідження не лише виявило нові клінічно значущі асоціації, але й дало змогу критично переоцінити біологічну та прогностичну роль окремих молекулярних показників.
- Це твердження розширює сучасні уявлення про роль BRCA1-асоційованих механізмів не лише в загальному прогнозі раку яєчників, але й у визначенні ефективності локорегіонарних методів лікування.

- Отримані дані дають змогу розглядати мікроРНК родини 200, TNF плазми крові та *BRCA1*-статус пухлини як окремі компоненти багатофакторної моделі прогнозу, що може бути використана для подальшої розробки персоналізованих алгоритмів ведення хворих.
- Результати дослідження поглиблюють сучасні уявлення про молекулярні механізми прогресування та рецидивування раку яєчників, уточнює прогностичну роль окремих біомаркерів та створює підґрунтя для подальшого впровадження персоналізованого підходу до лікування даної категорії пацієнток.

Практичне значення

- Оцінити PCI перед початком лікування з метою оцінки можливості досягнення повноти циторедукції (CC0-CC1)
- Забір крові для визначення рівня мікроРНК:
 - Варто проводити до початку лікування РЯ
 - Забір крові проводити з інтактною веною
 - 5 мл крові достатньо для проведення аналізу
- Тестування рівень експресії мікроРНК проводити за допомогою методу PCR-RT
- miR-200c використовувати як прогностичний маркер для пацієнток з РЯ
- *BRCA1*-статус РЯ використовувати з метою прогнозування ефективності HIPEC

Особистий внесок здобувача – автором самостійно проведений аналіз та узагальнення літератури за темою дисертаційної роботи, інформаційно-патентний пошук, визначена актуальність, мета та сформувані завдання дисертаційного дослідження, виконано клінічні та лабораторні дослідження, статистична обробка та аналіз отриманих результатів. Здобувачем підготовлено план та написані розділи дисертаційної роботи та висновки. У друкованих роботах разом зі співавторами участь здобувача є визначальною.

Публікації – за матеріалами дисертації опубліковано 4 наукові роботи (1 в іноземному журналі, 3 у фахових наукових виданнях України)

Обсяг та структура дисертації – дисертація викладена українською мовою на 233 сторінках друкованого тексту і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, розділу власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаної літератури та додатків. Список використаної літератури складається з 302 праць, з яких 296 – англійською мовою.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ. СУЧАСНІ ВИКЛИКИ У ЛІКУВАННІ РАКУ ЯЄЧНИКІВ

1.1 Епідеміологія, виживаність при раку яєчника, актуальність питання

Рак яєчників (РЯ) займає 3-є місце серед онкогінекологічних нозологій у світі [1,15]. З середньою захворюваністю 11,4 на 100 тис. та смертністю 6,0 на 100 тис. [4]. Очікується, що щороку виявлятиметься 239 тис. нових випадків захворювання та 152 тис. смертей внаслідок РЯ [4]. У Європі найнижча захворюваність на РЯ є у Нідерландах – 6,2 на 100 тис. та найвищою у Литві – 14,3 на 100 тис.[16]. РЯ має найвищу частоту захворюваності та смертності у східній та центральній Європі – 11,4 на 100 тис. та 6,0 на 100 тис. відповідно [4]. В цілому, на РЯ найчастіше хворіють білі жінки [17]. У світовій популяції спостерігається тенденція до зменшення захворюваності на РЯ. Серед жінок віком понад 50 років у 21 з 48 країн спостерігається зменшення захворюваності [1].

У Європейському союзі та Сполученому королівстві смертність від РЯ у 2022 році становила 4,32 та 4,57 на 100 тис. відповідно, що відповідало 26500 летальним випадкам [18].

Згідно даних Національного канцерреєстру за 2020 рік захворюваність на РЯ грубий показник становить 8,7 на 100 тис., а стандартизований 5,6 на 100 тис. Загалом за 2020 рік було діагностовано 3102 випадки захворювань на РЯ [3]. РЯ займає 5,2% від загальної захворюваності на злоякісні нозології та не мав тенденції до зміни рівня захворюваності, незважаючи на загальну нижчу кількість виявлених нових випадків захворювань на злоякісні новоутвори (на 19,5%), що в першу чергу може бути пов'язане з пандемією Covid-19 [3]. У цей період відмічався ріст питомої ваги захворюваності серед молодших груп населення (30-64 роки) та зниження виявлених випадків серед осіб старечого

віку (64+ років), що також може бути пов'язане з пандемією та Covid-19 та зниженою охопленістю населення онкологічною допомогою, для пацієнтів старшого віку зокрема.

За період 2020-2021 роки серед жіночого населення спостерігались зміни у віковій структурі захворюваності на РЯ, що відповідало загальній динаміці захворюваності за цей період в Україні, а саме: у віковій групі 18-29 років збільшилась захворюваність на РЯ до 8,2% (8,0% за 2019-2020 роки). Загалом захворюваність на РЯ у 2020 була нижчою на 12,5%, порівняно з такою у 2019 році [19].

Смертність в Україні від РЯ не змінилась порівняно з попередніми роками та залишалась на рівні 6,6% у структурі смертності від злоякісних новоутворень у жінок. Загалом від РЯ у 2020 році від РЯ загинуло 1625 жінок. 23,2% жінок, яким діагностовано РЯ у 2020 році не прожили 1 року з моменту встановлення діагнозу. У 1,2% діагноз встановлено посмертно [3]. У віковій структурі смертності вираженої динаміки приросту чи зменшення смертності не спостерігалось.

У Львівській області у 2020 році грубий показник захворюваності становив 9,4 на 100 тис., а стандартизований 6,3 на 100 тис. За цей період у нашій області виявлено 252 випадки захворювань на РЯ та 117 смертей, що становило рівень смертності 4,7 на 100 тис.

Через безсимптомний перебіг більшість випадків РЯ діагностуються на пізній стадії, коли 5-річна виживаність не перевищує 29%, натомість рання діагностика (на I стадії) забезпечує 5-річну виживаність на рівні 92% [1,4]. Загальна 5-річна виживаність при РЯ становить 45-47% [4]. При цьому ризик рецидиву є високим та становить 20-25% на I-II стадіях та сягає 70% на поширених стадіях (III-IV). Близько 25% рецидивів РЯ спостерігається протягом 6 місяців від завершення первинного лікування [5]. Для пацієток з

рецидивним РЯ прогноз здебільшого є несприятливим. Медіана виживаности після рецидиву становить близько 2 років [6].

Сам ж процес діагностики часто утруднений. Надійного методу скринінгу для раннього виявлення РЯ досі не розроблено. Визначення рівня СА-125 у крові та використання ультразвукового ТВД не можуть бути рекомендовані як метод скринінгу для популяції [20], ефективність ж використання комп'ютерної томографії [21] нівелюється її високою вартістю та обмежує як метод скринінгу широкої популяції.

1.2 Гістологічні підтипи РЯ

90% злоякісних новоутворень яєчників у жінок становлять пухлини епітеліального походження – карциноми. Серед них виділяють 5 основних підтипів: high-grade серозна карцинома (становить 70% епітеліальних злоякісних клітин яєчника), ендометріюїдна карцинома (10%), світлоклітинна карцинома (10%), муциозна карцинома (3%) та low-grade серозна карцинома яєчника (5%). Разом вони становлять близько 98% від усіх оваріальних карцином [1]. Розуміння відмінностей між підтипами РЯ є наріжним каменем для правильної діагностики, а відповідно і вибору тактики лікування та ведення пацієнтки у майбутньому.

Епітеліальні пухлини яєчника представлені гетерогенною групою нозологій, зокрема доброякісних, злоякісних пухлин та межових пухлин (borderline tumors), які у свою чергу поділяються на серозні, муциозні, ендометріюїдні, світлоклітинні, серомуциозні, пухлини Бреннера, недиференційовані карциноми, пухлини строми статевого тяжа, змішані пухлини з клітин і строми статевого тяжа, пухлини строми статевого тяжа, що не класифікуються, змішані герміногенні пухлини та пухлини з клітин строми статевого тяжа та інші пухлини (дані детально представлені у Додатку 1) [22].

Відносно донедавна парадигма розвитку і формування РЯ формувалась на основі думки, що РЯ розвивається у самому яєчнику жінки. Проте

проведені дослідження продемонстрували, що частина випадків РЯ формується не у самому яєчнику, а у фалопієвій трубці (зокрема серозний, ендометріюїдний та світлоклітинний РЯ) з наступним поширенням у яєчник [23]. До прикладу, у маткових трубах жінок з *BRCA1* та *BRCA2* мутаціями, яким проводили RRSO (ризик-редуючу сальпінго-оваректомію – risk-reducing salpingo-oophorectomy) виявляли «прихований» РЯ 3,5-4,6% випадках, що діагностувались лише на патогістологічному обстеженні [24,25].

Сучасні уявлення про рак яєчників істотно змінилися. Тривалий час через переважне виявлення захворювання на стадії інтраперитонеальної дисемінації вважалося, що метастазування при ньому відбувається переважно імплантаційним шляхом [26]. Проте експериментальні дані довели і можливість гематогенного поширення: у парабіозній моделі було показано метастазування клітин раку яєчників до сальника через кровоносне русло, причому ключову роль у цьому процесі відіграє вісь ErbB3–NRG1 [27]. Гіперекспресія ErbB3 також асоціюється з хіміорезистентністю [28]. Одночасно одним із найважливіших досягнень останніх десятиліть стало усвідомлення гетерогенності раку яєчників: це не одне захворювання, а група пухлин із різним морфологічним походженням, молекулярним профілем, клінічним перебігом і чутливістю до лікування [23]. Саме цим пояснюються відмінності між підтипами, зокрема нижча ефективність системного лікування при світлоклітинній карциномі порівняно з high-grade серозною [23].

Важливою концепцією стала дуалістична модель Kurman, яка поділяє пухлини на I та II типи [29]. До I типу належать low-grade серозні, low-grade ендометріюїдні та світлоклітинні карциноми, для яких характерні повільніший перебіг і вища генетична стабільність; до II типу — high-grade серозні та ендометріюїдні карциноми, недиференційовані карциноми та карциносаркоми, що відзначаються високою агресивністю [29]. Молекулярно-генетичні дослідження підтвердили відмінності між цими групами: для пухлин I типу

характерні мутації KRAS, BRAF, ERBB2, CTNNB1, PTEN, PIK3CA, тоді як high-grade серозні карциноми часто містять мутації TP53 і CCNE1 [40]. У межах проєкту Cancer Genome Atlas для high-grade раку яєчників також були виділені окремі транскрипційні підтипи [30], що різняться прогнозом і відповіддю на лікування [31].

Поряд із цим змінилися і погляди на гістогенез пухлин: нині вважається, що значна частина серозних карцином походить не з поверхневого епітелію яєчника, а з епітелію маткових труб, зокрема через STIC-ураження [32–34], тоді як ендометріюїдні та світлоклітинні карциноми тісно пов'язані з ендометріозом [35], а муцинозні пухлини та пухлини Бреннера — з ендоцервікальними або гастроінтестинальними джерелами [23,29] (Рис. 1.1).

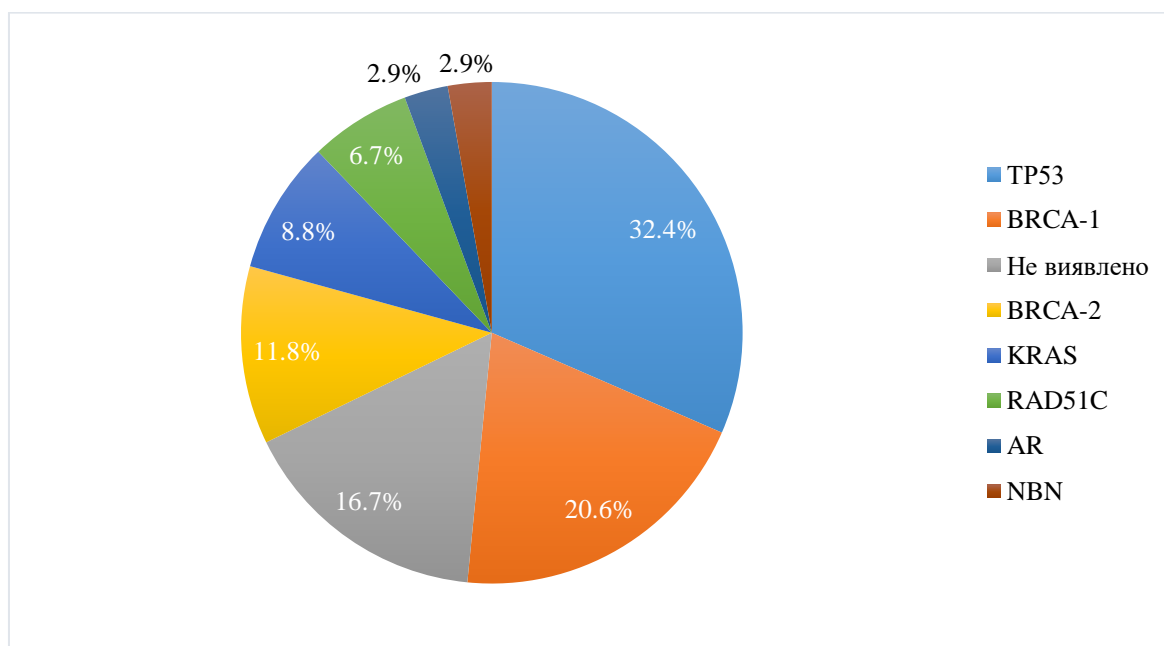


Рис. 1.1 Структура мутацій, виявлених при молекулярному профілюванні пухлини у пацієток з РЯ

1.3 Патогістологічна та молекулярно-генетична оцінка пухлини

Успішне ведення та лікування пацієток базується на вдалій та своєчасній діагностиці РЯ у пацієток. Для стадіювання РЯ використовується

класифікація FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics), яка інкорпорована у класифікацію AJCC 8-го видання (детально представлена у Додатку 2).

Важливим етапом діагностики є молекулярно-генетичне тестування для усіх жінок, в яких діагностовано РЯ, рак фалопієвих труб чи первинну перитонеальну карциному. Таких пацієток необхідно перевірити на наявність як соматичних так і герміногенних мутацій. Обов'язковим об'єктом тестування повинна бути наявність *BRCA1* та *BRCA2* мутацій як найбільш часті мутації у пацієток з РЯ [36], що зустрічається у 12-15% жінок з первинним РЯ та зростає до 40% при рецидиві [37,38]. Частіше зустрічається саме *BRCA1* мутація – приблизно у 15% випадків, а *BRCA2* у 5,2% [39]. Наявність *BRCA1* та *BRCA2* мутацій впливає на вибір тактики лікування пацієтки, зокрема ефективності підтримуючої хіміотерапії та PARP-інгібіторів. У випадку рецидиву РЯ рекомендовано повторити як патогістологічне обстеження тканини пухлини так і молекулярно-генетичне.

Пошук усіх інших генетичних аномалій при ініціальному обстеженні пацієтки залишаються на розгляд команди лікарів та/чи локального протоколу ведення пацієток з РЯ. Додатковими об'єктами пошуку можуть бути мутації *TP53*, *BRAF* та *KRAS*, *NTRK*, мікросателітна нестабільність (MSI – microsatellite instability), репарація помилково спарених нуклеотидів (MMR – mismatch repair) та рівень мутаційного навантаження пухлини (TMB – tumor mutation burden) [36]. До прикладу, мутація *TP53* зустрічається у 54,5% випадків серозних high-grade карцином яєчника [38], проте, станом на сьогодні, *TP53* не є «прикладною» мутацією, тобто не має застосування у клінічній практиці з огляду на можливості лікування пацієтки. Таргетні препарати, що могли б бути ефективними при даній мутації, перебувають на етапі клінічних досліджень [40]. Проте наявність мутації *TP53* визначатиме негативний прогноз для пацієтки з РЯ – цей факт негативно впливатиме на хіміочутливість пухлини [41]. Наявність мутації *TP53* є також свідченням

синдрому Лі-Фраумені, а отже і ризику розвитку інших злоякісних новоутворів.

Дефіцит гомологічної рекомбінації (homologous recombination deficiency – HRD) зустрічається близько у 50% серозних high-grade РЯ [30]. Гомологічна рекомбінація слугує механізмом, що відновлює дволанцюгові пошкодження ДНК. Гени *BRCA1* та *BRCA2*, поряд з іншими генами (*ATM*, *CHEK2*, *BARD1*, *BRIP1*, *Mre11*, *RAD50*, *NBS1*, *RAD51C*, *RAD51D* та *PALB2*), відіграють важливу роль у процесах гомологічної рекомбінації. Серед них *BRIP1*, *RAD51C* та *RAD51D* також, разом з *BRCA1* та *BRCA2*, відіграють роль у розвитку спадкового РЯ. З моменту відкриття генів *BRCA1* та *BRCA2* у 1994 році вони стали об'єктом досліджень можливості впливу на них протираковими препаратами [42].

Дволанцюгові дефекти ДНК розпізнаються кіназами *ATM* та *ATR*, що запускають каскад фосфорилування *CHEK2*, *P53*, *BRCA1* та *H2AX*. У даному механізмі *BRCA1* виступає основою, що згруповує усі інші білки у місці репарації. В подальшому MRN-комплекс (*MRE11*, *RAD50* та *NBS1*) сформує 3' кінець ДНК, що зв'яжеться з РРА. Роль *BRCA2* полягає у приєднанні *RAD51* до ДНК зв'язаної з РРА. В подальшому нуклеопротейновий філамент *RAD51* проникне у гомологічний ланцюг ДНК, що забезпечить відновлення пошкодженого фрагменту ДНК, використовуючи аналогічну неушкоджену хроматиду як матрицю [42].

Дефіцит *BRCA* у випадку дволанцюгового ушкодження ДНК унеможливорює гомологічну рекомбінацію. Це запускає альтернативний механізм репарації дволанцюгового ушкодження ДНК – негомологічне з'єднання кінців (nonhomologous end joining – NHEJ). Гомологічна рекомбінація проходить у фазі клітинного циклу G2 або M, коли наявна аналогічна хроматида, що може бути використана як матриця для відновлення ушкодженої ділянки. Через це гомологічна рекомбінація є точним та безпомилковим процесом репарації. Натомість, NHEJ не використовує

матриці для відновлення. При цьому вирізається ушкоджений фрагмент, а краї з'єднуються між собою. Це може спричинити до генетичної нестабільності клітини. У пухлинах з відсутністю *BRCA* процес гомологічної рекомбінації не функціонує, а клітина отримує схильність до накопичення генетичних мутацій [42].

Порушення або гомологічної рекомбінації або ексцизійної репарації основ не матиме не призведе до загибелі клітини. Проте відсутність чи порушення обох механізмів буде згубною для клітини. На цьому ґрунтується селективна дія PARP-інгібіторів – апоптоз спостерігатиметься лише у тих клітинах, де відсутні обидва механізми. У *BRCA*-мутантних клітинах спостерігається втрата функції PARP1 та формування ділянок RAD51 у ядрі. Пригнічення PARP у *BRCA*-мутантних клітинах спричинить нагромадження фрагментів ДНК з порушеною репарацією [42]. Доклінічні дослідження у 2005 році продемонстрували у 1000-разів більшу ефективність PARP-інгібіторів у *BRCA*-мутантних клітинах, порівняно з клітинами з збереженою функцією *BRCA* [43].

Таким чином, молекулярно-генетичне профілювання може мати визначальний вплив на вибір тактики лікування [44]. Попри високу вартість, молекулярно-генетичні дослідження рекомендовано проводити у ході рутинного діагностичного процесу РЯ.

1.4 Принципи комбінованого лікування пацієток з раком яєчника

Сучасні рекомендації лікування РЯ згідно рекомендацій NCCN версії 2.2023 передбачають комбіноване лікування з застосуванням хірургії та хіміотерапії. Впродовж останніх десятиліть спостерігалось поступове покращення виживаності у пацієток з РЯ.

Первинним етапом у лікуванні РЯ здебільшого є хірургічне втручання (циторедуктивні операції), яке, окрім лікувальної мети, є також визначальним для точнішого стадіювання пацієтки. Ефективність первинного оперативного

втручання буде визначальним для вибору подальшої тактики лікування для пацієнтки з РЯ.

Очеревина є основним місцем метастазування у більшості випадків поширеного РЯ. Очеревина і залишається найчастішим місцем рецидиву РЯ. Розуміння цього дозволило з часом розвинути методики локального впливу на РЯ – поетапне застосування хірургії та локального введення цитостатичних препаратів, а саме інтраперитонеальне введення концентрацій хіміопрепаратів з застосуванням гіпертермії (HIPEC – hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion).

Циторедуктивна хірургія – видалення первинної пухлини та метастазів на очеревині. Ця концепція лікування вперше була запронована Р. Sugarbaker [10]. Суть циторедуктивної операції полягає у видаленні максимальної кількості візуального компоненту пухлини у черевній порожнині, в тому числі імплантів вісцеральної та перитонеальної очеревини, чим зменшується мікроскопічне пухлинне навантаження у черевній порожнині та наступним інтраперитонеальним введенням цисплатину у високих концентраціях за умов гіпертермії.

Для оцінки прогнозу фактором та об'єктивним критерієм стадіювання перитонеального карциноматозу є перитонеальний раковий індекс (PCI – peritoneal cancer index), що слугує як показник можливості досягнення повного характеру циторедуктивної хірургії. Для обрахунку PCI черевну порожнину розділяють на 13 умовних тазово-абдомінальних ділянок, у кожній з яких залежно від розмірів імплантів оцінюється ступінь карциноматозу (від 1 до 3 балів) з подальшим підсумовуванням балів всіх ділянок (Рис. 1.2).

Доопераційний обрахунок PCI є важливим прогностичним фактором для пацієнтки з РЯ. Проведений метаналіз Yang et al. [45] демонструє, що вихідний рівень PCI впливає на виживаність пацієнток. Медіана виживаності була довшою при значеннях $PCI < 10$ (56,7 місяців [95% ДІ: 45,2–68,2]) та коротшою

при значеннях PCI >20 (28,8 місяців [95% ДІ: 23,0–34,6]). У підгруповому аналізі було встановлено, що медіана виживаності становила 73,9 місяців (52,0–95,8) при PCI <10 та 27,2 місяців (21,8–32,6) при PCI >10; медіана виживаності становила 48,9 місяців (38,0–59,8) при PCI <20 та 29,7 місяців (12,6–46,9) при PCI >20.

Peritoneal Cancer Index

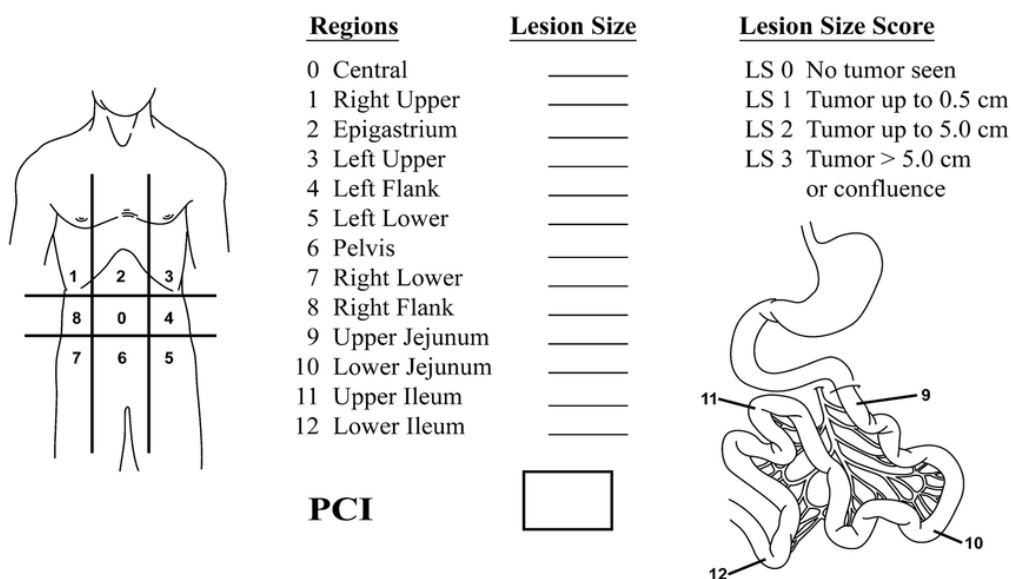


Рис. 1.2 Обрахунок перитонеального ракового індексу (PCI)

Медіана виживаності без прогресування становила 23,7 місяців (95% ДІ: 16,5–30,8) при значеннях PCI <10 та 11,9 місяців (95% ДІ: 5,9–17,9) при значеннях PCI >20. Загальна 5-річна виживаність була вищою при значеннях PCI <10 (55,9% [95% ДІ: 46,7–65]) та нижчою при значеннях PCI >20 (28,5% [95% ДІ: 18,9–38,2]). Підгруповий аналіз показав, що: 5-річна виживаність становила 61,3% (95% ДІ: 49,9–72,8) при PCI <10, але лише 21,7% (95% ДІ: 11,6–31,8) при PCI >10. У підгрупі PCI <20 5-річна виживаність становила 50,1% (95% ДІ: 39,0–61,2), тоді як у підгрупі PCI >20 вона знижувалася до 21,7% (95% ДІ: 16,2–27,1).

Загалом, вищий рівень PCI є прогностично несприятливим фактором досягнення повноти циторедукції. Jonsdottir et al. [46] повноти циторедукції

вдалось досягти лише у 67,2% пацієток з PCI >24, які, до того ж, мали і вищу частоту ускладнень ($p = 0.008$). Лише 28,6% пацієнтів із PCI >33 досягли повного CRS.

Критерієм повноти циторедуктивного втручання слугує ступінь повноти циторедукції (CC – completeness of cytoreduction score). CC-0 — макроскопові резидуальні пухлинні вогнища на очеревині після циторедукції відсутні, CC-1 — резидуальні вогнища діаметром не більше 2,5 мм, CC-2 — розмір резидуальних вогнищ від 2,5 мм до 2,5 см, та CC-3 — розмір резидуальних вогнищ більший за 2,5 см [10]. До того ж, лише пацієтки, у яких вдається досягти повноти циторедукції (CC-0) мають кращі показники загальної виживаності [47], що становить понад 5 років ($p=0,04$) (Додаток 3) та довшою безрецидивною виживаністю, що становила понад 36 місяців у пацієток з повною циторедукцією, порівняно з з групами пацієток з резидуальною пухлиною <1 см (12-36 місяців) та резидуальною пухлиною >1 см (6-12 місяців) ($p=0,08$) (Додаток 4).

Системне лікування раку яєчників еволюціонувало від малоефективної монотерапії мелфаланом у 1950-х роках, яка не забезпечувала суттєвого покращення виживаності [48], до впровадження препаратів платини [49], що стало першим значним проривом і дозволило подовжити безрецидивну та загальну виживаність. Подальше включення паклітакселу ще більше покращило результати лікування [50], а заміна цисплатину на менш токсичний карбоплатин забезпечила подібну ефективність при кращій переносимості та вищій якості життя пацієток. Тому на сьогодні стандартом першої лінії терапії раку яєчників залишається комбінація внутрішньовенного паклітакселу та карбоплатину.

Основними режимами хіміотерапії для лікування РЯ є «платиновмісні» комбінації цитостатиків, що варіюють залежно від гістологічного підтипу РЯ [36] – карбоплатин-паклітаксел з чи без додаванням бевацизумабу для high-

grade серозного РЯ; 5-ФУ, лейковорин, оксаліплатин / капецитабін, оксаліплатин / паклітаксел, карбоплатин з чи без додаванням бевацизумабу для муцинозної карциноми; гормональна терапія інгібіторами ароматази / паклітаксел, карбоплатин з чи без додаванням бевацизумабу для low-grade серозного РЯ і G1 ендометріюїдного РЯ.

Сьогодні досі залишається актуальним питання рецидивного РЯ. Оскільки близько у 25% пацієток з РЯ ранніх стадій та у 80 % поширених стадій спостерігатиметься рецидив [51], а їх очікувана тривалість життя становитиме від 12 до 18 місяців [52]. Markman та Hoskins [53] у 1992 році були першими, хто звернув увагу на рецидивний РЯ та розділив його на платино-чутливий та платино-резистентний залежно від тривалості безрецидивної виживаності. Станом на сьогодні пацієтки, що зрєцидивували протягом 0-3 місяців по завершенню лікування вважаються платино-рефрактерними, 3-6 місяців – платинорезистентними, 6-12 місяців – помірночутливими та більше 12 місяців – високочутливими до препаратів платини [7].

Пацієткам, що зрєцидивували >6 місяців від завершення хіміотерапії з застосуванням препаратів платини (т.зв. платиночутливі), можна повторно призначати режими хіміотерапії з використанням препаратів платини [39]. Що довший період від завершення лікування препаратами платини до рецидиву, то краща відповідь до протирєцидивного лікування [54]. У ході дослідження рандомізованого контрольованого дослідження III фази МІТО-8 порівнювалась ефективність платиновмісних режимів хіміотерапії з режимами без включення препаратів платини. У дослідженні брали участь «платиночутливі» пацієтки, що зрєцидивували протягом 6-12 місяців по завершенню лікування. Результати дослідження вказують на те, що у «платиночутливих» пацієток з РЯ терапія платиновмісними хіміотерапевтичними режимами повинна починатись якомога швидше, а їх заміна на альтернативні режими демонструвала гірші показники ЗВ (21,8 проти 24,5 місяців) та БРВ (12,8 проти

16,4 місяців) [55]. Подібні результати були продемонстровані у рандомізованому дослідженні III фази INOVATYON [56].

Усі наступні рецидиви РЯ повинні вестись за тими ж рекомендаціями і настановами, що і первинний рецидив. Вибір схем хіміотерапії при повторних рецидивах повинен ґрунтуватись на попередньо отриманому лікуванні [36].

Ті пацієнтки, яким не показане призначення препаратами платини, продовжують лікування паклітакселом, пегельованим ліпосомальним доксорубіцином, гемцитабіном та топотеканом з додаванням PARP-інгібіторів та антиангіогенних препаратів (бевацизумаб). 20% пацієнок з групи платинорезистентних, які отримували паліативну хіміотерапію, не мали кращого ефекту від лікування та прогресують у ході паліативної хіміотерапії. БРВ та ЗВ для цієї категорії пацієнок становить 1,2 та 2,9 місяців відповідно. Лікування II лінії та всіх наступних ліній має ефект лише у частини пацієнок. До прикладу, пегельований ліпосомальний доксорубіцин демонструє ефект лише у 20%. Додавання до цитостатичної терапії бевацизумабу здовжує БРВ з 3,4 до 6,7 місяців, а ЗВ з 13,3 до 14,6 місяців. Незважаючи на помірну ефективність наступних ліній хіміотерапії у розрізі відповіді пухлини, вони мають позитивний вплив для «контролю симптомів» пухлини [39].

Слід відзначити, що платиночутливість з часом може змінюватись і пацієнтки і після кожного наступного рецидиву ефективність лікування препаратами платини буде знижуватись. З моменту прийняття паклітакселу як стандарту лікування жінок з РЯ у 1992 році [50] не було досягнуто нових «проривів» у лікуванні жінок цитостатичними препаратами. Це можна розцінювати як свідчення піку ефективності їх застосування. Стандартний підхід у лікуванні РЯ (стандартне хірургічне лікування + стандартна хіміотерапія) забезпечують 5-річну виживаність на рівні 45% [57]. Проте це відкриває подальші можливості та доцільність дослідження таргетних та імунопрепаратів у комбінації цитостатиками чи у монорежимі для лікування пацієнок з РЯ.

Бевацизумаб є анти-VEGF антитілом, що схвалене та широко використовується при лікуванні РЯ у ході I та II лінії хіміотерапії. Схвалення застосування бевацизумабу у Європі ґрунтується на рандомізованому контрольованому дослідженні III фази OCEANS, у ході якого досліджувалась ефективність препарату у «платиначутливих» жінок з РЯ. У досліджуваній групі спостерігалось здовження БРВ до 12,4 місяців у порівнянні з контрольною – 8,4 місяці [58]. У III фазі дослідження COG 213 додавання бевацизумабу до стандартної терапії карбоплатин-паклітаксел демонструвало здовження БРВ до 23,8 місяців порівняно з 10,4 місяцями контрольної групи. ЗВ не між досліджуваними групами не продемонструвало різниці у ході дослідження, проте подальше спостереження за пацієнтками 65,7 проти 53,6 місяців [59]. У дослідженні MITO16B-MaNGO OV2B-ENGOT OV17 [60] досліджувалась ефективність застосування бевацизумабу у пацієток з РЯ, що прогресували >6 місяців після завершення терапії першої лінії та вже отримували лікування бевацизумабом. Згідно з отриманими результатами, повторне застосування бевацизумабу у комбінації з платино-вмісними режимами хіміотерапії для лікування рецидиву РЯ давало кращі показники БРВ 11,8 проти 8,8 місяців (контрольна група). Ефективність бевацизумабу спостерігалась як для тих, хто прогресував у ході першої лінії лікування так і для тих, хто спрогресував по завершенню ініціального лікування.

Інгібітори полі (АДФ-рибозо) полімерази (PARP) були затвердженні для лікування FDA у 2014 році [42] та використовуються у сьогоненній практиці у 2 режимах – як монотерапія або ж у поєднанні з бевацизумабом при прогресуючих резистентних РЯ або як підтримуюча терапія після завершення основного лікування РЯ, незалежно від статусу BRCA або дефіциту гомологічної рекомбінації пацієнтки. Застосування для підтримуючої терапії PARP-інгібіторами є доцільним і у випадку попереднього їх застосування у ході лікування препаратами першої лінії [36,61]. Згідно результатів міжнаціонального мультицентрового когортного дослідження RESPONSE

79% пацієток з high-grade серозним чи ендометріоїдним РЯ є показаним застосування PARP-інгібіторів у якості першої лінії підтримуючої терапії [57].

Ефективність застосування PARP-інгібіторів у якості підтримуючої терапії у платиновичувливих пацієток з рецидивним РЯ досліджувалась на основі олапарибу у рандомізованому подвійно-сліпому плацебо-контрольованому дослідженні II фази [62]. У дослідженні брали участь пацієтки незалежно від *BRCA*-статусу. У когорти, що отримувала олапариб спостерігалась майже у двічі довша БРВ порівняно з контрольною групою – 8,4 проти 4,8 місяців. Проте не спостерігалось статистично достовірної різниці у ЗВ між контрольною та досліджуваною групою. Повторний аналіз отриманих даних [63] у ході II фази дослідження виявив, що пацієтки, у яких була присутня *BRCA*-мутація, мали значно кращу відповідь на олапариб, порівняно з тими, хто отримував плацебо – БРВ становила 11,2 проти 4,3 місяців, відповідно. БРВ пацієток без *BRCA*-мутації, що приймали олапариб, становила 7,4 проти 5,5 місяців контрольної групи. Статистично достовірної різниці ЗВ не було знайдено для обох груп. У III фазі дослідження [13] ЗВ досліджуваної групи була 19,1 місяців проти 5,5 місяців контрольної. Дослідники дійшли висновку, що прийом препарату рекомендовано для застосування у платиновичувливих пацієток з РЯ з метою підтримуючої терапії.

Спільним для усіх PARP-інгібіторів є явище довготривалого ефекту, що наразі не має наукового пояснення – він проявлявся у пацієнтів, що тривало приймали PARP-інгібітори [39]. У дослідженні SOLO2 ЗВ виживаність пацієток з платиновичувливим рецидивним РЯ, що приймали олапариб, була на 12,9 місяців довшою порівняно з контрольною групою [64].

У III фазі дослідження SOLO3 ефективність порівнювалась монотерапії олапарибу та неплатинового цитостатика у пацієток з рецидивним РЯ та *BRCA*-мутацією, що вже отримали декілька ліній протирецидивної хіміотерапії. Результати продемонстрували кращу ЗВ та БРВ у когорти, що

приймала олапариб у монорежимі, порівняно з когортою, що приймала неплатиновий цитостатик. У групі олапарибу спостерігалась нижча частота побічних реакцій – 10 проти 20% [65].

Нірапариб є одним з препаратів групи PARP-інгібіторів. На відміну від інших препаратів з групи, він пригнічує ензими цитохрому P450 та P-глікопротеїн, що зменшує частоту побічних реакцій від застосування нірапарибу [39]. За результатами дослідження III фази AGO OVAR 2.22 trial (NOVA) [66] нірапариб був рекомендований для застосування у пацієнок з рецидивним РЯ з помірною та високою чутливістю до препаратів платини, незалежно від їхнього *BRCA*-статусу та стану гомологічної рекомбінації. Хоча краща БРВ спостерігалась для когорти з наявною *BRCA*-мутацією, порівняно з *BRCA*-диким типом – 21,0 проти 5,5 місяців та 12,9 проти 3,8 місяців відповідно. Стан гомологічної рекомбінації не був визначальним для ефективності нірапарибу – як у пацієнок з дефіцитом гомологічної рекомбінації, так і за умов її нормального функціонування ефективність нірапарибу була однаково показовою.

У II фазі дослідження QUADRA [67] оцінювалась ефективність застосування нірапарибу у монорежимі для платиночутливих пацієнок з РЯ, в яких були наявними *BRCA*-мутація та дефіцит гомологічної рекомбінації. Усі пацієнтки до моменту призначення нірапарибу отримали, в середньому, 4 лінії хіміотерапії. У 27,7% відсотків спостерігалась відповідь на лікування нірапарибом у монорежимі. Це дозволило у 2019 році FDA рекомендувати нірапариб для застосування у монорежимі у пацієнок з рецидивним РЯ та дефіцитом гомологічної рекомбінації у якості 4-ї та вище лінії хіміотерапії.

Рукапариб є PARP-інгібітором, що затверджений у Європі до використання у монорежимі для пацієнок з рецидивним РЯ та позитивним *BRCA*-статусом, які отримали вже більше 2 ліній хіміотерапії та не можуть продовжувати лікування препаратами платини та для підтримуючої терапії у

платиначутливих пацієнок після завершеного ініціального лікування, незалежно від *BRCA*-статусу. Ефективність рикапарибу як монотерапії для пацієнок з рецидивним РЯ та позитивним *BRCA*-статусом була доведена у дослідженнях ARIEL2 та Study 10 [68,69] - більшість пацієнок (54%) мали позитивну відповідь на лікування [68]. В подальшому ефективність рикапарибу було підтверджено у дослідженні ARIEL3 [70], де препарат продемонстрував здовження БРВ виживаності на понад 10 місяців у пацієнок з позитивним *BRCA*-статусом та дефіцитом гомологічної рекомбінації у порівнянні з контрольною групою.

1.5 Гіпертермічна інтрачеревна хіміперфузія (HIPEC)

Основним місцем поширення РЯ є черевна порожнина. Це створює обмеження та ускладнює лікування РЯ. Зокрема, через існування гемато-перитонеального бар'єру проникність внутрішньовенних цитостатиків до інтраперитонеальних дисемінатів є нижчою, а дозування венних хіміпрепаратів є обмеженими розвитком мієлотоксичності. Проте ця ж особливість гемато-перитонеального бар'єру дозволяє безпечно створювати необхідні концентрації хіміпрепаратів у черевній порожнині без розвитку суттєвих токсичних ускладнень у післяопераційному періоді.

Ідея повноцінної нормотермічної внутрішньочеревної ХТ була відображена у рандомізованому дослідженні III фази, яке порівнювало внутрішньовенне введення паклітакселу та цисплатину з внутрішньовенним паклітакселом у поєднанні з внутрішньочеревним цисплатином і паклітакселом у пацієнок із раком яєчників III стадії [71]. У дослідженні взяло участь 415 пацієнок з вперше діагностованим та раніше не лікованим РЯ, резидуальні вогнища були розміром не більше ніж 1,0 см. Пацієнтки отримували 135 мг/м² внутрішньовенного паклітакселу протягом 24 годин, після чого: 75 мг/м² внутрішньовенного цисплатину на 2-й день (група внутрішньовенної терапії), або 100 мг/м² внутрішньочеревного цисплатину на

2-й день та 60 мг/м² внутрішньочеревного паклітакселу на 8-й день (група внутрішньочеревної терапії). Лікування проводили кожні три тижні протягом шести циклів.

Медіана загальної виживаності становила 49,7 місяці та 65,6 місяці для внутрішньовенної хіміотерапії та внутрішньочеревної хіміотерапії, відповідно (Рис. 1.3). Медіана безрецидивної виживаності становила 18,3 місяці у групі внутрішньовенної хіміотерапії та 23,8 місяці у групі внутрішньочеревної хіміотерапії (Рис. 1.4).

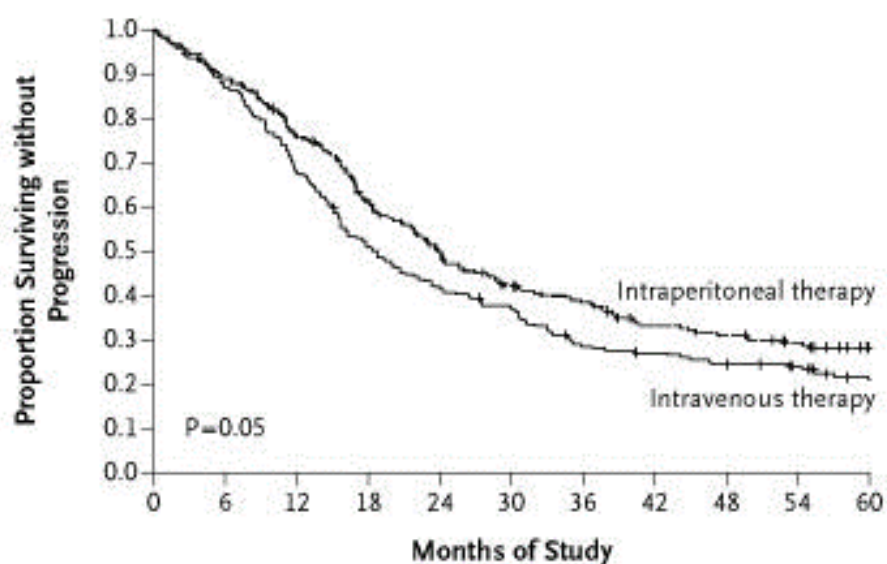


Рис. 1.3 Загальна виживаність пацієток з РЯ у групах інтраперитонеальної та внутрішньовенної ХТ [71]

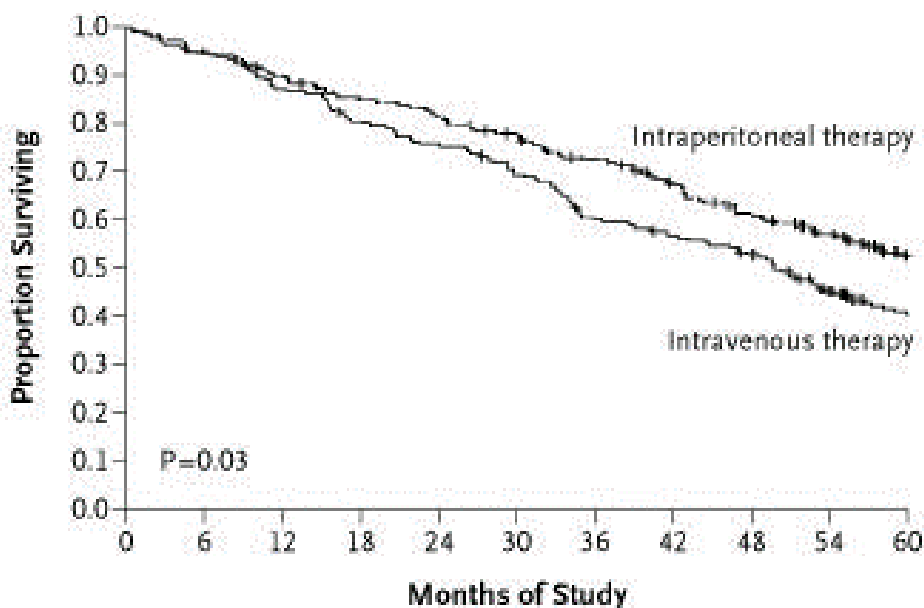


Рис. 1.4 Безрецидивна виживаність пацієток з РЯ у групах інтраперитонеальної та внутрішньовенної ХТ [71]

Альтернативним методом до нормотермічного інтрачеревного введення хіміопрепаратів є гіпертермічний – HIPEC. Застосування гіпертермії при інтраперитонеальному введенні хіміопрепаратів потенціує дію останніх. Гіпертермія має більшу токсичність для ракових тканин, ніж для нормальних тканин. Цей переважний вплив на рак зростає зі зменшенням васкуляризації злоякісного утворення. Вона підвищує проникнення цитостатичних сполук у тканини та збільшує їхній цитотоксичний ефект [72].

Історія застосування HIPEC для лікування інтраперитонеального карциноматозу починається з кінця 60-х років XX століття. Проте принципи методики були сформульовані лише в кінці 90-х років XX століття Р. Sugarbaker [10]. Станом на сьогодні комбіноване лікування за допомогою циторедуктивної операції та наступним застосуванням HIPEC вже є стандартом для лікування деяких злоякісних нозологій червної порожнини, зокрема псевдоміксоми очеревини. Проте таке комбіноване лікування ще не включене у стандарти ESMO з лікування первинного та рецидивного РЯ [73]. Тим не менш, рекомендації NCCN розглядають проведення HIPEC після інтервальної

циторедукції [74] та, загалом, проведені дослідження демонструють ефективність НІРЕС у лікуванні місцево-поширеного РЯ.

У мультицентровому ретроспективному дослідженні оцінювалась ефективність поєднання циторедуктивних операцій з наступним застосуванням НІРЕС проти лише циторедуктивної операції у пацієток з первинним епітеліальним РЯ III стадії. Медіана загальної виживаності становила 49,8 місяці (95% ДІ: 45,2–60,2) у пацієток, які отримали циторедуктивне втручання з НІРЕС, та 34,0 місяці (95% ДІ: 28,9–41,5) у пацієток, які отримали лише циторедуктивне втручання. Трирічна загальна виживаність становила 60,3% (95% ДІ: 55,3%–65,0%) у групі комбінованого лікування циторедуктивного хірургічного втручання та НІРЕС та 49,5% (95% ДІ: 41,0%–57,4%) у групі тільки циторедуктивної операції [75].

В одному з досліджень проведення циторедуктивної операції з застосуванням НІРЕС збільшувала загальну виживаність приблизно на 12 місяців - загальна виживаність становила 44,9 місяці (95% СІ = 38.6–55.1 місяці) в групі НІРЕС порівняно з 33,3 місяця (95% СІ = 29.0–39.1 місяці) в групі лише хірургічного втручання, при цьому 5-річні показники загальної виживаності склали 36,9% і 19,7% відповідно [76]. Подібного результату було досягнуто на базі Львівського онкологічного регіонального лікувально-діагностичного центру з медіаною виживаності у 45 місяців [77].

Дані про ефективність застосування НІРЕС у пацієток з рецидивним РЯ залишається дискусійним. Результати проведених досліджень по-різному оцінюють ефективність застосування методики у пацієток.

Bakrin et al. у ретроспективному мультицентровому дослідженні пацієток із рецидивним РЯ, які отримали комбіноване лікування циторедуктивним втручанням та НІРЕС [78] не виявили значної різниці у медіані загальної виживаності між пацієтками з платинорезистентним та

платиначутливим РЯ (48 місяців у платинорезистентних та 52 місяці у платиначутливих пацієнток, $p = 0.568$).

В іншому ретроспективному дослідженні "випадок-контроль", проведеному Le Brun [79] серед жінок із першим рецидивом РЯ, було виявлено значне покращення загальної виживаності у пацієнток, які отримали комбіноване лікування циторедуктивне втручання з подальшим НІПЕС. Safra et al. [80] у дослідженні "випадок-контроль", проведене серед жінок із рецидивним епітеліальним РЯ, також продемонструвало значне покращення п'ятирічної загальної та безрецидивної виживаності у пацієнток, які перенесли операцію з НІПЕС, порівняно з тими, хто отримував лише системну хіміотерапію (15 проти 6 місяців, відповідно, $p=0,001$). Дослідники також проводили аналіз результатів лікування залежно від мутацій у гені BRCA. 51,2% жінок у контрольній групі та 51,9% у групі НІПЕС мали мутацію гена BRCA. Було встановлено, що у носіїв мутації BRCA застосування НІПЕС після циторедуктивної операції значно покращувало виживаність (безрецидивна виживаність: 20,9 місяці у групі НІПЕС проти 12,6 місяця у групі тільки хіміотерапії, $p = 0.048$). Проте, BRCA-статус на впливав на безрецидивну виживаність.

Іншою перевагою застосування НІПЕС у комбінованому лікуванні місцевопоширеного РЯ є добра переносимість методики без розвитку суттєвих ускладнень та токсичності. Розвиток ускладнень при комбінованому лікуванні за допомогою НІПЕС у поєднанні з циторедуктивною хірургією здебільшого пов'язаний з хірургічними ускладненнями, такими як неспроможність анастомозу, внутрішня кровотеча та сепсис.

Токсичність НІПЕС зазвичай проявляється у вигляді мієлотоксичності та порушенням роботи нирок. Серед мієлотоксичних ускладнень найчастіше повідомляється про: тимчасове пригнічення кісткового мозку, анемію, лейкопенію та тромбоцитопенію. Гостре пошкодження нирок є

найпоширенішою токсичністю у пацієнтів, у яких для внутрішньочеревних введень використовується цисплатин. Інші побічні ефекти залежать від застосованих цитостатиків. Наприклад, оксаліплатин асоціюється із збільшенням ризику кровотеч.

Комбінація HIPEC із циторедуктивною хірургією пов'язана з вищими шансами розвитку токсичності, ніж при циторедукції без HIPEC. Проте останні дослідження показали, що рівень токсичності при HIPEC окремо та при HIPEC у поєднанні з циторедуктивною хірургією є подібним. У багатоцентровому рандомізованому контрольованому дослідженні Van Driel [81] рівень токсичності 3-4 ступеня був подібним у двох групах (25% у групі тільки з циторедуктивною хірургією проти 27% у групі циторедуктивна хірургія + HIPEC).

1.6 Формування хіміорезистентності пухлин

1.6.1 Хіміорезистентність пухлин

Хіміорезистентність пухлин залишається серйозною перепоною на шляху вилікування пацієнтів від злоякісних захворювань. Загалом, хіміорезистентність пухлин у деяких механізмах нагадує антибіотикорезистентність бактерій. Клінічним проявом хіміорезистентності є прогресування та рецидивування пухлини під час лікування чи після нього, у період спостереження, відповідно. Зокрема, 5-річна виживаність при РЯ не перевищує 50% [4]. Не зважаючи на те, що більшість пацієнок досягнуть ремісії після проведеного лікування, до 70% з них зретицидивують, а їх пухлина буде хіміорезистентною [26].

Застосування хіміотерапевтичних препаратів для лікування злоякісних захворювань розпочалось у 40-х роках з застосування аміноптерину (метотрексату) та азотистого іприту у монорежимі для лікування гемобластозів. Ефект був вражаючий, проте нетривалий [82,83]. Рішенням

стало застосування комбінації цитостатиків з різним механізмом дії, у різній інтенсивності призначення та до концентрації препаратів. Це призвело до покращення ефективності лікування, а отже і здовження виживаності пацієнтів. Тим не менш, станом на кінець ХХ століття спостерігається «плато» виживаності пацієнтів [9], що є свідченням вичерпання можливостей цитостатичної терапії у лікуванні злоякісних новоутворень та спонукає до пошуків нових рішень у подоланні хіміорезистентності пухлин.

При лікуванні злоякісних новоутворень мають значення 3 фактори: призначене лікування, його впливу на популяцію ракових клітин та середовище впливу [9]. Вони будуть визначальними для встановлення чи подолання резистентності пухлин. Зокрема, поєднання факторів резистентності, робитимуть пухлину нечутливою до хіміопрепаратів. Серед таких факторів можна виділити наступні:

1. Пухлинне навантаження. Розмір пухлини чи кількість злоякісних клітин (при гемобластозах) матимуть обернену залежність від виживаності пацієнтів – чим більша пухлина, тим гірший прогноз для пацієнта [9]. Ініціальне уявлення про механізм дії хіміотерапії полягало у тому, що ритичні, часто повторювані цикли застосування хіміопрепаратів поступово знищуватимуть пухлину аж до повного зникнення. Проте, така парадигма не спрацьовує з пухлинами, що є резистентними або низькочутливими до хіміопрепаратів. Проте, більш сучасне уявлення про механізм дії хіміопрепаратів засноване радше на поєднанні декількох теорій: теорія Голді-Колдмана (Goldie–Coldman) [84] – чутливість пухлин залежить від їхнього розміру та здатності до мутацій; кінетика росту є прогностичним фактором відповіді на лікування – індулентні пухлини мають кращий прогноз, проте практично не чутливі до хіміопрепаратів, порівняно з пухлинами, що активно ростуть [9]; під гіпотезу Нортон-Сімона (Norton–Simon) [85] підпадає більшість солідних пухлин, згідно з якою, ріст пухлини можна описати кривою росту Гомперца (Gompertzian growth

curves) – менше пухлинне навантаження зумовлює стрімкіший ріст пухлини, поступово збільшуючись, швидкість росту пухлини знижується, виходячи на плато [86]. Зменшуюючи розмір пухлини, хіміопрепарати стимулюють її ріст. Згідно з цією теорією, важливим є призначення наступного циклу хіміотерапії у найкоротший термін.

2. Гетерогенність пухлини. Клітини пухлини здатні накопичувати в собі мутації, створюючи часову та просторову гетерогенність. Пухлинна еволюція може відбуватись за лінійною моделлю росту – еволюційно надається перевага клітинам, що набирають нових властивостей, проте вони зберігають мутації предка. У розгалуженій моделі росту клітини з клона-попередника утворюються декілька мутантних, генетично різноманітних клітин, що не схожі на клітину-попередника. Просторову гетерогенність визначається генетичною різноманітністю пухлинних субпопуляцій поміж різними локалізаціями (метастазами) та, іноді, навіть в межах однієї анатомічної ділянки. До прикладу, дослідження мутаційного навантаження РЯ та його метастазів за допомогою секвенування виявило, що під час метастазування спостерігалось незначне накопичення нових мутацій. Лише 6% соматичних мутацій були спільними для всіх зразків, і більшість соматичних мутацій, виявлених у метастатичних зразках, також були присутні в зразках первинної пухлини. Це дослідження підтверджує, що перитонеальне імплантаційне метастазування відбувається з мінімальним накопиченням соматичних мутацій і змін числа копій генів, що може свідчити про те, що метастатичний потенціал розвинувся на ранніх етапах розвитку раку яєчників [26]. Клітини РЯ метастазують як поодинокі клітини або як кластери. Вважається, що вони рухаються через пасивний механізм, що підтримується фізіологічним рухом перитонеальної рідини (злюкисний асцит). Злюкисний асцит створює мікрооточення, сприятливе для пухлини, тим самим сприяючи її гетерогенності при РЯ. Цікаво, що ступінь просторової генетичної різноманітності суттєво відрізняється серед

пацієнтів, відображаючи значну внутрішньопацієнтну та міжпацієнтну варіабельність. Відмінності в мікрооточенні пухлини можуть частково пояснювати цю гетерогенність. Проте природа цієї варіабельності є недостатньо вивченою [26].

Часова гетерогенність характеризується динамічною зміною генетичною різноманітності пухлини з плином часу. Накопичення та зміна генетичного матеріалу пухлинною клітини є тим фактором, що зумовлює рецидивування пухлини під час лікування. До прикладу, резистентні клони пухлини можуть існувати з самого початку існування пухлини та в ході лікування, еволюційно, стають домінуючою популяцією. Або ж, клони клітин, що були ініціально чутливими до хіміотерапії, набувають нових характеристик, що робить їх резистентними [87].

Результати аналізу ряду публікацій демонструють, що первинна пухлина та її метастази характеризуються однаковим набором генетичних змін, що підтверджує ідею про те, що основні грубі генетичні зміни при РЯ відбуваються на стадії первинної пухлини [26]. Більш того, злоякісні клітини, що присутні в асциті, відображають відповідну первинну пухлину РЯ [88]. Цікаво також, що синхронний двосторонній рак яєчників є моноклональним, однак первинні та метастатичні вогнища еволюціонують незалежно один від одного [89].

3. Фізичні бар'єри. Пухлинні клітини можуть утворювати бар'єри, що утруднюють кровопостачання та провокують сприятливі, гіпоксичні, умови для розвитку пухлини та знижують доступність ліків. Ріст пухлини у анатомічних ділянках, що фізіологічно є важкопроникними для хіміопрепаратів – наприклад ЦНС та очеревина через гемето-енцефалічний та гемато-перитонеальний бар'єри. Деякі з солідних пухлин, що первинно розвиваються не з клітин ЦНС, мають підвищений тропізм до метастазування саме у ці структури (наприклад, карциноми легень, HER2-позитивний рак грудної залози, меланома та карциноми нирок)

4. Імунна система та мікрооточення пухлини. Це середовище, що включає імунні клітини, стромальні елементи та судини. Воно може сприяти розвитку резистентності до терапії у декілька способів. Перешкоджання імунному знищенню пухлинних клітин: імуносупресивне мікрооточення пригнічує активність цитотоксичних Т-клітин і природних кілерів (НК-клітин), що дозволяє пухлинним клітинам уникати знищення імунною системою. Перешкоди для поглинання ліків: нерівномірна судинна структура та наявність фізичних бар'єрів, створених стромальними клітинами, обмежують доступність терапевтичних препаратів до пухлинних клітин. Стимуляція паракринних факторів росту: клітини мікрооточення виділяють сигнальні молекули, які активують шляхи росту в пухлинних клітинах, сприяючи їх виживанню та прогресуванню [90].

Попри успіхи імунотерапії, залишається відсоток пацієнтів, для яких бажана ефективність лікування не досягається. Рівень відповіді на лікування (response rate) у більшості солідних пухлин становить 15–30%, тоді як у випадку меланоми та пухлин з мікросателітною нестабільністю (MSI-H) досягає 45–60% [91]. Згідно даних метаналізу [92] застосування ІКТ покращує загальну виживаність (overall survival) із коефіцієнтом ризику (HR) 0,74 (95% ДІ 0,71–0,78), що свідчить про зниження ризику смерті на 26% у порівнянні зі стандартною терапією.

Причиною цьому є механізми резистентності пухлин до імунотерапії: Низьке навантаження мутацій: Деякі пухлини мають недостатню кількість неоантигенів для ефективного представлення імунній системі, що перешкоджає їхньому розпізнаванню [93,94]. Генетичні мутації: Втрата β 2-мікроглобуліну порушує механізми представлення антигенів пухлинними клітинами. Мутації JAK1 або JAK2 роблять пухлинні клітини нечутливими до дії інтерферону-гамма [95]. Імуносупресивне мікрооточення: так звані

«імунні пустелі» [90] є значним бар'єром для ефективності інгібіторів контрольних точок. Вони формуються через:

- присутність регуляторних Т-клітин,
- мієлоїдних супресорних клітин,
- асоційованих із пухлиною макрофагів,
- цитокінів і хемокінів, які пригнічують імунну відповідь.

5. Селективний терапевтичний вплив. Протипухлинна терапія є фактором, що викликає зміни як у пухлині, так і в її екосистемі. «Звичайна» хіміотерапія (цитостатики) та радіотерапія підсилюють геномну нестабільність, що має масивний і широкий вплив на клітини, які виживають, та на неклітинні компоненти [96,97]. Вони також можуть індукувати імунні відповіді в організмі, які зменшують анти-пухлинну відповідь [98].

Адаптивна резистентність. Під час таргетної терапії зміни є менш помітними і поділяються на ранні адаптивні відповіді або набуту резистентність після тривалого впливу.

- Адаптивні відповіді можуть виникати настільки швидко, що клінічно вони залишаються непомітними, що призводить до короткочасного терапевтичного ефекту.
- Часто вони виникають через зняття негативного зворотного зв'язку в сигнальних шляхах або епігенетичну модифікацію. Це призводить до активації паралельних шляхів або реактивації початкового шляху [9].

Набута резистентність. У випадках, коли тривалий клінічний ефект змінюється на прогресування пухлини, спостерігаються такі механізми:

- Нові активуючі мутації у самій мішені (таргеті), зміни у каскадах генів або навіть гістологічні зміни.

- У моногенних пухлинах резистентність до інгібіторів тирозинкіназ (TKI) часто викликана: Мутаціями "gatekeeper", які запобігають зв'язуванню препаратів з місцем дії, ампліфікацією гена або появою сплайс-варіантів.
- Ампліфікація гену, що знаходить вище у каскадному механізмі активації. Мутації супресорів пухлин, як-от PTEN, активують сигнальний шлях PI3K β у відповідь на інгібітори PI3K α . Мутації BRCA1/BRCA2, які компенсують дію інгібіторів PARP.
- Терапія може призводити до фенотипових змін та спричиняти еволюцію пухлин у нові гістологічні варіанти. Наприклад, агресивний нейроендокринний фенотип у раку простати або недрібноклітинному раку легень, який був чутливим до TKI, згодом стає резистентним. У цих випадках спостерігалась втрата пухлинами RB1 і TP53 та набуття пухлинами резистентності до антиандрогенів та TKI [99,100].

Цікаво, що дослідження, які проводились для вивчення причин рецидивування РЯ, виявили генетичну схожість поміж первинною пухлиною РЯ та її рецидивними клонами. Одна група дослідників досліджувала серію зразків від одного пацієнта, взятих під час первинної дебалкінг-операції та через 42 місяці після неї, у цей проміжок пацієнтки отримали 21 цикл хіміотерапії. Виявлені мутації у первинних та рецидивних зразках демонстрували майже ідентичні генетичні набори [101]. Інша група дослідників брали зразки асцити під час первинного лікування, першого рецидиву та другого рецидиву у трьох пацієток з серозним високозлоякісним РЯ, які отримували стандартне лікування. Метою було визначення клонального походження та мутаційних адаптацій у рецидивуючих РЯ [102]. Обидва дослідження показали, що генетично різні гетерогенні клони існували ще до початку лікування, а більшість мутацій у первинних пухлинах зберігалися навіть після отриманої терапії. Це свідчить про те, що більшість клонів РЯ здатні уникати дії сучасної хіміотерапії [26].

1.6.2 Платинорезистентність

Цитостатичні препарати на основі платини відносяться до групи алкілюючих. До них відносяться цисплатин, карбоплатин, оксаліплатин, надаплатин, гептаплатин та лобаплатин. Перші три є найбільш поширеними та найчастіше використовуються у лікуванні злоякісних новоутворень – як солідних пухлин, так і гемобластозів, та є загальновизнаними стандартами лікування. Всі інші препарати на основі платини є схваленими до використання в окремих країнах [103]. Препарати платини залишаються базовими препаратами для лікування РЯ. Зважаючи на це, важливість вивчення платинорезистентності у пацієнок з РЯ залишається актуальним на цей день, оскільки рецидив РЯ може формуватись навіть з одного платинорезистентного клона (клітини) РЯ, що вижив після ініціального лікування [104].

Першим препаратом на основі платини був цис-діаміндихлоридплатина або цисплатин, відкритий Барнетом Розенбергом (Barnett Rosenberg) та схвалений до використання у 1979 році. Наступними поколіннями препаратів платини стали карбоплатин та оксаліплатин, які характеризуються нижчим рівнем токсичності у порівнянні з цисплатином.

Цисплатин є нейтральним комплексом платини (II) квадратної плоскої координації, що регулюється двома атомами хлору та двома групами аміаку, де атоми хлору мають цис-геометричне розташування. У карбоплатину, препарату II покоління, атоми хлору заміщуються оксигенованим бідендатом циклобутан-дикарбоксилатом. Для оксаліплатину, препарату III покоління, характерним є заміщення аміногруп цисплатину на 1,2-діаміноциклогексан. Оксаліплатин володіє більшою цитотоксичністю, порівняно з цисплатином, хоч і утворює менше сполук із ДНК [105].

У крові сполуки платини з'єднуються з сироватковими білками (напр. альбуміном) і в такому вигляді транспортуються до пухлини. На сьогодні відомо 3 способи проникнення цисплатину у клітину [103]:

1. Пасивна дифузія
2. Білки-транспортери міді (CTR1)
3. Транспортери органічних катіонів

Вже у клітині молекула цисплатину пройде активацію через заміщення атомів хлору молекулами води або малими молекулами, що містять сульфгідрильні групи. Такі зміни є спровоковані значно нижчою концентрацією хлору у клітині (приблизно 4 ммоль) у порівнянні з позаклітинною концентрацією (приблизно 100 ммоль). Сполуки карбоплатину та оксаліплатину є більш стійкими до аквації через хелацію. У подальшому сполуки платини ковалентно зв'язуються з ДНК у N7 позиції гуаніну та в меншій мірі з аденіном шляхом утворення ковалентного зв'язку з атомом нітрогену, формуюючи внутрішньо- та міжланцюгові зшивання ДНК, спричиняючи зміну її структури та спричиняючи пошкодження ДНК. Це, у свою чергу, зупинить поділ клітини та спричинить апоптоз у злоякісних клітин, що стрімко діляться [103,106].

Хоч такий механізм дії цисплатину і вважається загальноприйнятим, проте, за даними літератури, він може спостерігатись лише у 1-10% випадках. Іншими ж механізми цитостатичної дії цисплатину можуть бути закислення цитоплазми, стрес рецептора естрогену, порушення транскрипції РНК, пригнічення основних онкогенних білків, порушення метаболічної пластиності ракових клітин та зміни у їхній механобіології [106].

У частини пацієнтів з часом розвиватиметься платинорезистентність. До прикладу, Patch A.M [107] з командою виявили, що у пацієток з РЯ з кожним наступним циклом платиновмісних препаратів зростала кількість неконтрольних кодуєчих одонуклеотидних варіантів (SNV), вказуючи на

еволюцію пухлини у ході лікування. Їх механізм дії був не до кінця зрозумілим, проте на думку дослідників SNV були залучені у формування резистентності пухлинних клітин. Розуміння процесів розвитку платинорезистентності РЯ дозволить у майбутньому ефективніше долати її та та РЯ. Вважається, що існує ряд механізмів формування платинорезистентності:

1. Нижча концентрація препарату у клітині
2. Збільшення активності механізмів детоксикації
3. Надмірна активність процесів репарації ДНК
4. Пригнічення апоптозу
5. Аутофагія
6. Мезенхімально-епітеліальний перехід

Накопичення цитотоксичного препарату у клітині є необхідною умовою для отримання бажаного лікувального ефекту. Таким чином, посилення ефлюксу (виходу речовин із клітини) чи послаблення інфлюксу (надходження речовин у клітину) негативно впливатиме на ефективність препаратів платини. Тривалий час вважалось, що платина пасивно проникає у клітину, проте, зважаючи на несприятливий прогноз від платинорезистентности, питання активного транспорту молекул платини через клітинну мембрану та можливість впливати на цей процес стоїть особливо гостро.

Надродина переносників розчиненої речовини (solute carrier superfamily – SLC) є залученими у активний процес транспортування через клітинну мембрану. SLC включають у себе понад 300 представників та 65 підродин, одними з яких є переносники органічних катіонів (organic cation transporters – OCT) [108]. За нормальних умов, SLC є наявними у всіх клітинах організму. Проте їхня експресія та поширеність можуть змінюватись під впливом взаємодії ліків між собою та хвороби, що впливатиме на здатність клітини накопичувати в собі лікарські речовини [109]. До прикладу, за деякими даними літератури омепразол може знижувати ефективність цисплатину [110]. Для

кожного препарату платини наявні свої переносники: hOCT1 (*SLC22A1*), hOCT2 (*SLC22A2*) та hMATE1 (*SLC47A1*) для цисплатину, hOCT2, hOCT3 (*SLC22A3*), hMATE1 (*SLC47A1*) та hMATE2-K (*SLC47A2*) для оксаліплатину [105].

До інфлюксу препаратів платини, зокрема цисплатину, карбоплатину та оксаліплатину, безпосередньо залучений переносник міді 1 (copper transporter 1 – CTR1). Пригнічення цього гену у клітинах дріжджів зменшувало внутрішньоклітинну концентрацію цисплатину та спричиняло платинорезистентність, та навпаки – гіперекспресія CTR1 у клітинах недрібноклітинного раку легень збільшувало чутливість клітин до карбоплатину, цисплатину та оксаліплатину. Мідь у клітині шляхом зворотнього негативного зв'язку пригнічує активність hCTR1 у клітині, таким чином посилюючи платинорезистентність клітини [105]. Проте, роль CTR1 у платиначутливості клітини ставиться під сумнів у деяких публікаціях [111–113], де пригнічення CTR1 чи, навпаки, його гіперекспресія не призводили до збільшення платиначутливості ракової клітини *in vitro*.

Молекули платини, після проникнення у клітину, зв'язуються з АТР7А/В після чого відбувається подальше переміщення комплексу. В нормі, АТР7А/В знаходяться поблизу комплексу Гольджі, проте у платинорезистентних клітинах АТР7А/В знаходиться у везикулах на периферії клітини у цитозолі. Загалом роль АТР7А/В вважається такою, що сприяє платинорезистентності клітини. АТР7А, зв'язуючись з цисплатином, утримує його від проникнення у ядро клітини. У пацієнтів з колоректальним раком спостерігалась довша БРВ та краща відповідь на оксаліплатин, якщо у них була знижена експресія АТР7В [105]. Згідно даних літератури, мікроРНК (зокрема miR-495, miR-139 та miR-133a) здатні регулювати платиначутливість клітини шляхом впливу на АТР7А/В.

Протеїн мультирезистентности (multidrug resistant protein – MRP) є АТФ-зв'язуючою підродиною, що відповідає за ефлюкс аніонних амфифільних

сполук, зокрема ендогенних молекул, фізіологічного субстрату та ліків. Гіперекспресія MRP2 пов'язана з резистентністю до цисплатину при дрібноклітинному раку легень, раку стравоходу та РЯ. Присутність MRP4 зменшує накопичення оксаліплатину та цисплатину у клітині [105].

Одним з елементів детоксикаційної системи клітини є глутатіон (L-γ-глутаміл-L-цистеїніл-гліцин – GSH), що відповідає за захоплення вільних радикалів, збереження сульфгідрильних груп білків та забезпечує захист клітини від ксенобіотиків. SH-групи глутатіону мають високу спорідненість платиною, а високий вміст GSH та глутатіон-S-трансферази у клітині є характерними для платинорезистентних клітин [105]. Для подолання резистентності клітини до платини можливо пригнітити роботу GSH за допомогою конкурентних інгібіторів ($[\text{Cu}(\text{phen})(\text{H}_2\text{O})_2(\text{ClO}_4)_2]$ (C10)) [114] або ж пригнітити синтез GSH бутинонін сульфоксиміном [115]. Хоч таке пригнічення GSH буде неспецифічним та пошкодить, в тому числі, здорові тканини. Для специфічного інгібування GSH увагу дослідників привертає цистеїн та регулятор його захоплення – хс-. Для цього виявились ефективним сульфасалазин та салубрінал, а також епігенетичне пригнічення за допомогою miRNA-27a [105].

Іншим інактиватором препаратів платини виступають білки металотіонеїну шляхом хелатування. На підтвердження цього у пухлинній тканині та сироватці крові пацієнтів з раковими захворюваннями рівень металотіонеїну є підвищений [116]. Групою дослідників ізоформи металотіонеїну були визнані як фактори прогнозу платинорезистентності пацієнтів [117], а участь в їх регуляції приймають мікроРНК, зокрема miR23 та miR224 [118].

Зв'язуючись з ланцюгами ДНК, платина змінює її будову та зумовлює порушення реплікації та транскрипції, а також дволанцюгові пошкодження ДНК. Коли ж пошкодження стає забагато або ж клітина не здатна відновити структуру ДНК, запускається апоптоз. Підвищена активність репарації ДНК

вважається одним з найбільш суттєвих факторів платинорезистентности, за винятком дефіциту MMR, що є сприяє резистентности до цисплатину та карбоплатину, проте є менш вагомим фактором для чутливості до оксалиплатину, оскільки останній є більш цитотоксичним порівняно з цисплатином та у більшій мірі спричиняє дволанцюгові порушення ДНК та апоптоз. Здебільшого внутрішньоланцюгові з'єднання видаляються за допомогою вирізання пошкоджених нуклеотидів та відновлення цілісності ДНК [105].

Ексцизійне відновлення з перехресною комплементациєю (excision repair cross-complementing – ERCC) та усі його складові є важливими елементами репарації ДНК. І у той же час вони та, зокрема, одонуклеотидні поліморфізми, є вагомими причинами розвитку платинорезистентности злоякісних клітин. У одному з досліджень [119] аналізувалась відповідь пацієнтів з недрібноклітинним раком легень на лікування платиновмісними препаратами. Для пацієнтів III стадії визначальними були одонуклеотидні поліморфізми у генах *ERCC1* та *ERCC3*, а для пацієнтів IV стадії у *ERCC4*. Подібні результати були продемонстровані і в результатах інших досліджень [105], проте експресія *ERCC1* не впливає на чутливість до оксалиплатину у нейроендокринних пухлинах [120]. Хоча це твердження не варто вважати суперечливим, оскільки експресія *ERCC4* залежить відрізняється між тканинами організму та сприяє резистентности до цисплатину [121]. *ERCC1* та *ERCC4* формують комплекс, що виконує функції нуклеази. Його пригнічення збільшує чутливість до цисплатину у 4-6 разів [105].

Гени *BRCA* є відповідальними за репарацію дволанцюгових пошкоджень та пошкодження перехресних зшивок ДНК шляхом гомологічної рекомбінації. Зміни генах *BRCA1* та *BRCA2* порушують процеси репарації ДНК у ділянках, пошкоджених платиною, що сприяє платиночутливості злоякісних клітин. Тим не менш, зустрічаються випадки платинорезистентности у пухлинах з мутаціями у *BRCA1* та *BRCA2*. Це

пояснюється втратою нуклеосомного фактора ремоделювання CHD4, що може спричинити резистентність до цисплатину шляхом відновлення через пошкоджену ділянку (translesion DNA synthesis – одним з варіантів якого є NHEJ), а не за допомогою гомологічної рекомбінації [122]. Іншим можливим поясненням цього феномену може бути відновлення *BRCA1* та *BRCA2* у ракових клітинах у ході лікування [123]. Відносно нещодавно відкриті *Wwox* та *USP13* регулюють участь *BRCA1* у відновленні дволанцюгових пошкоджень. Вплив на них дозволить регулювати чутливість клітин до платини [124].

Після ушкодження ДНК, спричинених платиною, запускається процес апоптозу. Існує 2 механізми апоптозу: зовнішній та внутрішній. Зовнішній відбувається за рахунок приєднання TNF до поверхні клітини та активації каспази-8. Внутрішній механізм апоптозу запускається у випадку порушення рівноваги між проапоптичними (*BAX*, *BAK*) та антиапоптичними білками (*BCL-2*, *BCL-XL*, *BCL-w*), після чого збільшується проникність мітохондріальної мембрани, вивільняється цитохром-с та активуються каспази. Платинорезистентні клітини мають вищий рівень антиапоптичних білків або порушення сигнального шляху для мітохондрій. Причинами цього можуть бути сигнальні шляхи, що сприяють виживанню клітини (MAPK/ERK, PI3K/AKT, NF-κB), пухлинне мікрооточення та епігенетична регуляція. Остання зокрема відбувається через вплив некодуючих РНК. Для РЯ мікроРНК, що регулюють апоптоз клітини є *miR-634*, *miR-139-5p*, *miR-216b*. Проте, найбільш вивченими станом на зараз є *p53* та мікрооточення пухлини [105].

Ген *p53* є одним з основних генів-онкосупресорів. Він виступає активатором транскрипції контрольних точок (checkpoint), репарації ДНК та апоптозу. Попри це, *p53* є необхідним елементом для цитотоксичності препаратів платини. Для запуску апоптозу *p53* активує у ядрі каскад генів *FAS*, *BBC3*, *BAX* та *BIRC5*, а у цитоплазмі безпосередньо впливає на мітохондрії. У

випадку мутації у *p53* у пацієнтів спостерігатиметься порушення чутливості до препаратів платини, порушення апоптозу та здовження життя клітин [105].

Окремо варто виділити роль мікроРНК у регуляції платинорезистентності РЯ. МікроРНК, пов'язані з резистентністю до платини в клітинах раку яєчників, є потенційними терапевтичними мішенями при лікуванні РЯ. Було виявлено, що експресія *miR-139-5p* є пригніченою в клітинах РЯ. Також було показано, що дана мікроРНК пригнічує апоптоз ракових клітин, одночасно індукуючи резистентність до цисплатину через шлях *c-Jun/Vcl-x1*. Більше того, *miR-1294* регулює резистентність РЯ до цисплатину шляхом підвищення регуляції *IGF1R*. Вибиття *IGF1R* посилює проліферацію, міграцію, інвазію та епітеліально-мезенхімальний перехід, і, отже, сприяє резистентності до цисплатину. Однак, було показано, що надмірна експресія *miR-1294* має протилежні ефекти [125]. Метилування *miR-7* посилює погану відповідь раку яєчників на платину через *MAFG* [126]. Крім того, *miR-622* регулює реакцію на платину через шляхи *HR* та *NHEJ13*. *miR-493-5p* посилює хіміорезистентність та поганий прогноз раку яєчників через гени *RNASEH2A*, *FEN1* та *SSRP1* [127]. *miR-551b* сприяє проліферації, інвазії, утворенню колоній та хіміорезистентності ракових клітин через *Foxo3* та *TRIM31* [128]. *miR-21* сприяє онкогенезу та хіміорезистентності клітин раку яєчників через шлях *JNK-1/c-Jun* [129]. *miR-142-5p* впливає на антиапоптотичні гени (*XIAP*, *BIRC3*, *BCL2L2* та *MCL1*) для сприяння хіміорезистентності [130]. *miR-483-3p* посилює проліферацію клітин та пригнічує апоптоз через *PRKCA* [131]. *miR-182* пов'язують з низькою виживаністю без прогресування та загальною виживаністю у пацієнтів з раком яєчників через *DDR2* [132], тоді як *miR-30* сприяє резистентності до платини через ген *MYPT1* та шлях *hippo* [133].

Іншим фактором формування резистентності пухлин, зокрема і РЯ, є мікрооточення пухлин. Мікрооточення пухлини є складною екосистемою, що оточує пухлину та складається з раково-асоційованих фібробластів, ендотеліальних клітин, перицитів, імунних та запальних клітин, клітин

кісткового мозку, кровоносних судин та екстрацелюлярного матриксу. Між пухлиною та її мікрооточенням проходить постійна взаємодія, що сприяє росту та прогресуванню пухлини. Пухлинне мікрооточення стимулює ріст пухлини, долаючи гіпоксію та кислотність середовища, стимулює неоангіогенез пухлини з метою покращення метаболізму у пухлині [134,135].

Дані літератури вказують на те, що раково-асоційовані фібробласти є залучені у процес пухлинної проліферації, метастазування та хіміорезистентності. Раково-асоційовані фібробласти активують антиапоптичні сигнальні шляхи (PI3K/АКТ, ANXA3/JNK та IL-11/IL-11R/STAT3) за допомогою цитокінів, білків та екзосомальних мікроРНК, чим посилюють резистентність злоякісних клітин [105,136,137]. Раково-асоційовані фібробласти беруть участь у ремодулюванні екстрацелюлярного матеріалу, змінюють фізичні характеристики пухлини, провокують виділення цистеїну та глутатіону, чим зменшують внутрішньоклітинну концентрацію препаратів платини [138,139].

Неконтрольований стрімкий ріст пухлини призводить до нестачі нутрієнтів у пухлині, що призводить до гіпоксії. Гіпоксія, у свою чергу, є фактором несприятливого прогнозу для пацієнтів, зокрема для РЯ, недрібноклітинного раку легень, гепатоцелюлярної карциноми та ін. Гіпоксія активує експресію гіпоксично-індукованих факторів (hypoxia-inducible factors – HIFs), що складаються з 2 компонентів: киснево-лабільна субодиниця альфа (HIF1 α , HIF2 α та HIF3 α) та стабільна субодиниця бета (HIF1 β). HIF1 α , створюючи димер з HIF1 β у ядрі клітини, здатна регулювати метаболізм глюкози, ангіогенез, проліферацію та інвазію клітини та метастазування. Окрім цього, HIF1 α регулює апоптоз, впливаючи на ключові гени, що регулюють апоптоз (*Bcl-2*, *Bax*, *caspase 3* та *caspase 8*) та сигнальні шляхи необхідні для виживання клітини (NF- κ B, PI3K/АКТ). Збільшення концентрації HIF зумовлює виділення факторів росту та активацію mTOR [105]. У даних літератури є повідомлення про вплив мікроРНК на експресію

HIF1 α та, відповідно, на перебіг гіпоксії у клітині та її чутливість до цисплатину [140].

У злоякісних клітинах, що швидко діляться, переважає анаеробний гліколіз порівняно з окисним фосфорилуванням (ефект Варбурга), що пригнічує активність вільних окисних радикалів. Хоча у деяких хіміорезистентних клітинах може спостерігатись зворотнє явище – переключення на окисне фосфорилування глюкози [141]. У даній ситуації HIF виступає стимулятором анаеробного гліколізу та пригнічує функцію мітохондрій. Пригнічення HIF1 α призводить до відновлення окисного фосфорилування, збільшення активності вільних кисневих радикалів та збільшення чутливості клітин до цисплатину [142]. З іншого боку, за певних обставин, вільні кисневі радикали мають протилежну дію та через активацію сигнального шляху виживання клітини (с-Myc-miR-137-EZH2, IL-11-JAK2-STAT5, ATR-Chk1 та ін.) можуть посилювати резистентність ракових клітин до препаратів платини [105].

Роль аутофагії у процесі карциногенезу залишається дискусійною. Вона регулюється різними механізмами: PI3K-Akt-mTOR pathway, Beclin1, Bcl-2, Ras, p53 та некодуючими РНК, зокрема мікроРНК, що, в тому числі, регулюють чутливість до платини впливаючи на ATG7 та сигнальний шлях PI3K/AKT/mTOR [143]. З одного боку, у платинорезистентних клітинах посилювалась аутофагія після впливу препаратів платини, а пригнічення аутофагії призводило до збільшення чутливості до препаратів платини [105].

1.6.3 TNF

TNF – чинник некрозу пухлини (tumor necrosis factor) є мультифункціональним цитокіном, що відіграє важливу роль у життєвому циклі клітини (в т.ч. проліферації, диференціації та смерті – апоптозу). На момент відкриття TNF у 1975 році уявлення про його роль в організмі відобразились у його назві – онкосупресорний білок з потенційною цінністю

для лікування злоякісних новоутвір. У ході подальших досліджень з'ясувалось, що він також є відповідальним за проліферацію, виживання, міграцію та неангіогенез, що є основними факторами росту та прогресування пухлини.

TNF-альфа є одним з трьох прозапальних цитокінів разом з IL-3 та IL-6. Він залучений, у тому числі, у механізми адгезії лейкоцитів до ендотеліальною вистилки посткапілярних венул, за умови високоих концентрацій – до внутрішньосудинного тромбоутворення. Впливає на гіпоталамічні центри терморегуляції та провокує розвиток гарячки [144].

Ген TNF-альфа розміщений на 6-й хромосомі (6p21.33), в межах генів відповідальних за головний комплекс гістосумісності класу III. TNF-альфа продукується здебільшого є макрофагами, проте його утворення можливе В- і Т-лімфоцитами, дендритними клітинами, гранулоцитами, фібробластами та епітеліальними клітинами. На утворення TNF-альфа впливають різні чинники, у тому числі УФ-випромінення, осмотичний стрес, мітогени, хімічні чинники (зокрема форболові ефіри), бактерії та віруси [144]. Експресія TNF-альфа регулюється ядерним фактором карра В (NF- κ B), ядерним фактором активованих Т-клітин та активуючим протеїном-1 шляхом впливу на Toll-like рецептори, рецептори Т-клітин та інші [145]. У даних літератури також наводиться механізм регуляції TNF за допомогою мікроРНК [146]. Проте, згідно даних літератури, механізм взаємної регуляції мікроРНК та TNF недостатньо вивчений та є обмежена кількість публікацій на дану тему.

На поверхнях клітин розташовано 2 типи рецепторів, з якими може зв'язуватись TNF-альфа – TNFR1 (TNFR60/TNFR p55) та TNFR2 (TNFR80/TNFR p75). Рецептори TNFR1 розташовані практично на всіх типах клітин. TNFR2 експресуються лише на ендотеліальних клітинах, деяких клітинах імунної системи, клітинах мікроглії, олігодендроцитах та міоцитах міокарда. Перший бере участь здебільшого за процес запалення та клітинної смерті, а TNFR2 за виживання клітин та регенерацію [147]. На користь

проонкогенної функції рецепторів TNFR2 свідчить їх обмежена кількість на поверхнях нормальних клітин організму та наявність на клітинах деяких злоякісних процесів (колоректальний рак, множинна мієлома, рак нирки, лімфома Годжкіна, негоджкінська лімфома з ураженням шкіри, РЯ) [148,149]. Після зв'язування з рецепторами TNFR запускається подальший каскад впливу на клітину. Для цього TNF володіє трьома сигнальними шляхами: протеїнкінази, активуюються мітогеном (MAPK – mitogen-activated protein kinase), NF- κ B та сигнальний шлях апоптозу. Вплив TNF-альфа на клітину залежатиме від концентрації – у терапевтичних дозах він матиме онкосупресивну дію, у фізіологічних – виступатиме як проонкогенний цитокін.

Роль TNF у клінічному перебігу злоякісних новоутворів підтверджується рядом дослідників як проонкогенна. Підвищений рівень TNF-альфа був виявлений у пацієнтів з мієлодиспластичним синдромом та гострою мієлоїдною лейкемією [150], а гіперекспресія однонуклеотидного поліморфізму TNF-альфа (TNF-238 та TNF-308) корелюють з нейтропенією та важкою анемією при мієлодиспластичному синдромі [151]. У пацієнтів з хронічною мієлоїдною лейкемією окрім підвищеного рівня TNF-альфа спостерігалася підвищена експресія рецепторів TNFR1 та TNFR2 [152]. TNF-альфа спричинює також формування злоякісної мезотеліоми під впливом азбесту [153]. TNF-альфа зумовлює нестабільність ДНК шляхом утворення вільних кисневих радикалів, що за механізмом дії нагадує непрямий вплив іонізуючого опромінення [154], збільшує інвазію та метастазування клітин [155,156]. Підвищені рівні TNF у крові пацієнток при РЯ статистично достовірно вказують на злоякісний характер процесу та допомагають віддиференціювати його від доброякісних новоутворів [144]. Це вказує на TNF як потенційний метод діагностики РЯ.

TNF відіграє роль у формуванні мікрооточення пухлини. Зокрема він пригнічує імунну відповідь та дозрівання дендритних клітин та макрофагів [157].

Дослідження *in-vitro* з біологічним матеріалом пацієток з РЯ демонстрували подібні результати, за яких мононуклеари периферичної крові пацієток з РЯ активніше продукували TNF-альфа, порівняно такими пацієток без злоякісних неоплазій яєчника. Не спостерігалось залежності поміж стадією РЯ та рівнем експресії TNF-альфа [158].

На противагу цьому Nomelini et al. [148] не знаходять статистично достовірного підвищення TNFR1 та TNF-альфа у сироватках крові пацієток з РЯ та кистозних компонентах РЯ порівняно з контрольною групою, а також типом РЯ, стадією процесу та ступенем диференціації пухлини. Експресія TNFR2 у кистозних компонентах РЯ була достовірно вищою, порівняно з групою доброякісних новоутворів ($p=0,02$). Експресія TNFR2 була достовірно вищою у пухлинах з ступенем диференціації G2 та G3 (high-grade) ($p=0,0087$).

У процесі карциногенезу наводяться факти про TNF-альфа як онкосупресора та каталізатора відповіді пухлинних клітин на лікування. Токсичний вплив TNF-альфа зростатиме разом зі збільшенням його концентрації та тривалості експозиції [159] та ініціюватиме апоптоз клітин [160,161]. TNF через вплив на TNFR2 рецептори макрофагів зумовлював виділення оксиду азоту (NO), що у свою чергу пригнічувало неоангіогенез [162].

Pawlik et al. [163] порівнювали жінок з РЯ з доброякісними кистами яєчників за рівнем експресії прозапальних цитокінів IL-6, IL-8 та TNF-альфа у сироватці крові. В дослідженні взяли участь 116 пацієток. Пацієнтки порівнювались за стадією РЯ, гістологічним підтипом. Середній рівень TNF-альфа сироватки крові становив 6,13 нг/мл та 2,15 нг/мл у групах РЯ та доброякісних неоплазій відповідно з достовірно вищою експресією у групі РЯ

($p < 0,05$). Граничними значеннями для рівня TNF-альфа було встановлено рівень у 2,63 нг/мл, коли чутливість та специфічність становили 85,7% та 79,3% відповідно ($p < 0,0001$). Не спостерігалось залежності поміж концентрацією TNF-альфа та гістологічним підтипом ($p = 0,82$) і стадією РЯ ($p = 0,42$).

Ці результати збігаються з такими представленими у The Human Protein Atlas [164], де граничним значенням для TNF-альфа у крові жінок з серозним РЯ встановлено значення у 4,79 нг/мл, а середнє значення 2,52 нг/мл. Хоча, згідно представлених даних, рівень TNF-альфа не впливав на виживаність.

Дещо інші значення наводяться в дослідженні Nomelini et al. [148], де рівень експресії TNF-альфа у сироватці крові становить 10,4 (4,5 – 63,9) пг/мл. Що можна пояснити використанням пробірок з гелем для забору зразків крові пацієнток.

1.6.4 Роль TNF у формуванні хіміорезистентності пухлин

Пухлинне мікрооточення відіграє важливу роль у підтримці росту, прогресії раку, формуванні відповіді на хіміотерапію. Відомо, що пухлинно-асоційовані макрофаги (ТАМ), включаючи макрофаги типу 1 (M1) та 2 (M2), мають різні протипухлинні та пропухлинні функції відповідно. Ці макрофаги відіграють ключову роль у вроджених та адаптивних імунних реакціях, що впливають на ріст ракових клітин. ТАМ, що проявляють фенотип M2, пов'язані з гіршим прогнозом у пацієнтів з раком, ніж ті, хто має фенотип M1. Відомо, що інтенсивна макрофагальна інфільтрація пухлинної тканини, зокрема метастазів в сальник, супроводжувалася гіршим виживанням пацієнток з серозним високозлоякісним раком яєчників [165].

Примітно, що ТАМ сприяють прогресуванню РЯ на різних стадіях розвитку захворювання. Вони відіграють певну роль у виході пухлинних клітин з імунної системи, міграції, інвазії та метастазуванні ракових клітин, а також в ангиогенезі [166]. M2-подібні ТАМ сприяють прогресуванню РЯ,

надаючи значний імуносупресивний вплив на імунні клітини в межах ТМЕ, що дозволяє раковим клітинам уникати атак. Імуносупресивна функція M2-подібних TAM сильно корелює з гіперактивацією білка STAT3. Ця активація згодом підвищує вироблення IL-10 та IL-6, TNF [166]. Вищі концентрації TNF були виявлені в супернатантах первинних культур хіміорезистентних раків яєчників [167]. Отже, зазначені прозапальні зміни пухлинного мікрооточення асоційовані з хіміорезистентністю серозного високозлоякісного раку [165–167] і можуть використовуватися як предиктивні маркери відповіді на цитостатичну терапію. Проте відсутність достатньої кількості зразків тканини рецидивної пухлини перед плануванням HIPEC ускладнює прогнозування відповіді на HIPEC. Даних щодо інформативності визначення рівня прозапальних цитокінів у сироватці крові як предиктивного маркера відповіді на HIPEC недостатньо. Тому серед поставлених в роботі завдань було оцінити інформативність прозапального маркера TNF плазмі крові пацієнток з РЯ у комбінації з іншими прогностичними факторами – рівнем експресії мікроРНК у плазмі крові та BRCA-статусом пухлини.

TNF-альфа є одним з факторів, що формує хіміорезистентність пухлин до цитостатичних препаратів. Зокрема, у дослідженнях *in vitro* спостерігалось зниження чутливості клітин раку грудної залози до доксорубіцину за наявності високої експресії трансмембранної TNF-альфа [168]. Така залежність спостерігалась як у клітинних лініях раку грудної залози так і в клітинах пухлин пацієнток з раком грудної залози. Спостерігалась зворотня кореляція між рівнем TNF-альфа та рівнем експресії гормональних рецепторів до естрогену та прогестерону (ER (-), Pr (-)). У 84% тричі негативного раку грудної залози рівень експресії TNF-альфа був підвищеним. Зниження чутливості ракових клітин до доксорубіцину відбувається за рахунок активації сигнального шляху MAPK/ERK та збільшенн експресії глутатіон S-трансферази-п (GST-п), що призводить до зменшення (детоксифікації) ефективності доксорубіцину.

Jo et al. досліджували вплив гриба *Cordyceps militaris* на чутливість карбоплатин-резистентної лінії клітин РЯ SKOV-3. Вони виявили, що *C. Militaris* пригнічували експресію NF- κ B та TNF-альфа, що таким чином збільшувало чутливість популяцій клітин до карбоплатину [169]. Іншим механізмом резистентності епітеліального РЯ є експресія білка PSMD4 (26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 4), який активує каскад реакцій за участі NF- κ B. Інактивація цього шляху реакцій призводила до збільшення вільних кисневих радикалів у клітинах РЯ, спричиненої карбоплатином, збільшувала чутливість до самого карбоплатину та пригнічувала аутофагію клітин РЯ [170].

У дослідженні Fetsych et al було продемонстровано, що інтраперитонеальна гіпертермія до 40°C протягом години у системі *in vitro* призводила до зниження експресії TNF у системі пухлинного мікрооточення. У пацієток, у яких спостерігалось зниження рівня TNF у супернатантах клітинних культур були достовірно вищими чутливість до хіміотерапії та, відповідно, безрецидивна виживаність понад 12 місяців [171].

Оригінальні дані дослідження OVHIPEC-1 [172] демонструють подібні результати, що характеристика мікрооточення пухлини у резекційних зразках високозляккісного РЯ після неоад'ювантної ХТ має предиктивне значення для прогнозування ефективності HIPEC. Для порівняння ефективності лікування пацієток з РЯ дослідники оцінювали відносний ризик рецидиву за допомогою шкали Delta Treatment Score (DTSIC). У дослідженні це оцінювалось за допомогою де-конволюції РНК. Де-конволюція bulk-RNA-seq із 147 резекційних зразків виявила значущу взаємодію між «імуниним» DTSIC і видом лікування щодо безрецидивної виживаності ($P < 0,005$): пацієтки з низьким DTSIC (вищий рівень В-клітин та нижчий рівень макрофагів) мали довшу безрецидивну виживаність при поєднанні циторедуктивної операції+HIPEC, тоді як за високого DTSIC — лише циторедуктивна операція без HIPEC. Сукупна імунна інфільтрація (сума В-, Т-

клітин і макрофагів) як безперервна змінна була незалежно пов'язана з довшою безрецидивною виживаністю (HR 0,15; 95% CI 0,03–0,62; $p=0,01$). Експлораторний піданаліз гістологічно оцінених зразків підтвердив предиктивність відсутності макрофагів: за їх відсутності додавання HIPEC покращувало загальну виживаність порівняно з лише циторедуктивною операцією (HR 0,53; 95% CI 0,32–0,89). У піднаборі RNA-seq коригування різниці в часі до ад'ювантної ХТ не нівелювало ефект HIPEC (PFS HR 0,72; 95% CI 0,56–1,09; OS HR 0,71; 95% CI 0,49–1,01). Сукупно, «імунний» склад мікрооточення пухлини, зокрема низька частка макрофагів і вища частка В-клітин, стратифікує очікувану користь від HIPEC.

Edwardson et al. досліджували вплив цитостатиків (доцетакселу, паклітакселу, карбоплатину та 5-ФУ) на лінію клітин РЯ A2780 та раку грудної залози MCF-7 і MDA-MB-231. Спостерігалось збільшення вивільнення у позаклітинний простір TNF-альфа через збільшення транскрипції, без руйнування клітинної стінки (цитолізу). Вивільнення TNF-альфа супроводжувалось ростом резистентності клітинних ліній до таксанів [173]. Це можна розцінювати як механізм захисту пухлин від токсичного впливу цитостатиків. Автори досліджували можливість впливу та пригнічення на ліпополісахариди з метою подолання резистентності клітинних ліній до цитостатиків. Подібних результатів досягли Voornme et al. [174], які спостерігали пригнічення експресії прозапальних цитокінів TNF-альфа та IL-6 у ліпополісахарид-толерантних макрофагах *in vivo* на мишах.

Чутливість РЯ до паклітакселу може також регулюватись за допомогою мікроРНК. Nuh et al. [146] вивчали вплив miR-106a та miR-591 на клітинні лінії РЯ резистентні до паклітакселу. Вони з'ясували, що пригнічення згаданих мікроРНК зумовлювало зменшення активності TNF та збільшувало чутливість клітин до паклітакселу.

На користь TNF як каталізатора чутливості пухлин до хіміотерапії також представлено ряд публікацій. До прикладу, вплив TNF-альфа може

збільшувати чутливість пухлин до хіміопрепаратів – через його токсичний вплив руйнуватимуться судини пухлини, що збільшуватиме проникність тканин для хіміопрепаратів [144], зокрема для мелфалану [175], доксорубіцину [176], EGFR-інгібіторів [177,178].

Беручи до уваги ці дані, можна безумовно стверджувати про роль TNF не лише у карциногенезі РЯ, проте і у процесі формування хіміорезистентності РЯ до препаратів I лінії, зокрема до препаратів платини. TNF відіграє важливу роль у формуванні мікрооточення пухлини та механізмів її «невидимости» для імунної системи та цитостатичного впливу хіміотерапії. Дослідження цих механізмів та способів впливу на них може дати розуміння для подолання хіміорезистентності, оптимізувати лікувальні методики, а отже і зменшити токсичність від лікування та покращити виживаність пацієток з РЯ.

1.7 Механізми подолання резистентності пухлин

Vasan et al. [9] наводить 4 ключових етапи, які на думку авторів найкраще підходять для впливу та покращення терапевтичного ефекту через подолання резистентності пухлин.

1. Раннє виявлення. На цьому етапі найважливішим залишається якомога рання діагностика пухлини та застосування найефективнішого лікування на початкових етапах для подолання пухлини – або ж скринінг та ад'ювантна терапія. Як згадувалось вище, стадія виявлення РЯ прямо впливає на виживаність пацієток. Скринінг ж при РЯ не забезпечує бажаної ефективності – недостатньо ефективний та не знижує рівня смертності. Дослідження останніх десятиліть вказують на циркулюючу пухлинну ДНК (ctDNA) [9] та мікроРНК [179] як на потенційні малоінвазивні маркери раннього виявлення злоякісних новоутворів, зокрема РЯ.

2. Проникаючий вплив лікування. Залишок навіть кількох пухлинних клонів обов'язково спричинить повторний ріст пухлини, тому на цьому етапі важливими є оптимізація дозування, графік введення та комбінації препаратів. Ефективність хіміотерапії токсичністю або терапевтичним індексом. Препарати з наночастинками (наприклад, ліпосомальні або альбумін-зв'язані формуляції) можуть зменшити токсичність хіміотерапії, але загалом вони не виявились кращими за традиційні хіміотерапевтичні препарати, окрім деяких випадків лейкемії [180]. При деяких гемобластозах чи герміногенних пухлинах високі дозування, обмежені переносимістю кісткового мозку, можуть поєднуватись з трансплантацією аутологічних стовбурових клітин після хіміотерапії. Однак цей підхід не був успішним при солідних пухлинах, що свідчить про те, що лише підвищення доз не завжди є ефективним [9].
3. Оцінка відповіді та додаткові втручання. Теперешній підхід до оцінки відповіді на лікування залишається у більшості випадків емпіричним – ми оцінюємо розміри пухлини за допомогою радіологічних зображень (КТ, рентген, тощо). Функціональні зображення, наприклад ПЕТ-КТ, дають можливість краще оцінювати проіжну відповідь на лікування та вже є стандартом для оцінки деяких відповіді пухлин, наприклад лімфоми Ходжкіна. Моніторинг відповіді на терапію в реальному часі дозволив би раніше коригувати дозування та режими лікування.

Набуту резистентність пухлини можливо оцінити за допомогою біопсії, однак гетерогенність резистентності може проявлятися як кілька стійких субклонів у численних метастазах [181]. Результати досліджень останніх років вказують на те, що методи на основі ctDNA можуть бути цінним інструментом для моніторингу

гетерогенності пухлини, її еволюції та відповіді на терапію. Як і для ВІЛ, для якого вірусне навантаження використовується для моніторингу відповіді та дотримання терапії, "пухлинне навантаження" (що вимірюється за допомогою ctDNA) може використовуватися подібним чином. Моніторинг в реальному часі за допомогою ctDNA може виявляти рецидив у пацієнтів, а також підібрати найбільш ефективну терапію, зокрема таргетну терапію [9].

Резистентність до імунотерапії суттєво відрізняється від резистентності до таргетної терапії. Прямі мішені імунного блокування контрольних точок (PD-1 і CTLA-4) та їхні ліганди необхідні для підвищення порогу активації Т-клітин і обмеження функції ефекторних Т-клітин, але вони не є ані необхідними, ані достатніми для онкогенезу чи відповіді на блокаду контрольних точок. До того ж, антиген-презентуючі клітини та Т-клітини мають більш стабільний геном порівняно з раковими клітинами. Таким чином, проста мутація або зниження експресії PD-1, PD-L1 або CTLA-4 не є поширеним механізмом компенсаторної резистентності. Хоча мутація PD-L1 теоретично може погіршити розпізнавання антитіл блокади контрольних точок, вона також порушить нормальну функцію антиген-презентуючих клітин і Т-клітин. Натомість, механізми, які знижують презентацію білків головного комплексу гістосумісності у ракових клітинах, такі як мутації *B2M*, *JAK1* або *JAK2*, домінують серед відомих механізмів резистентності до імунотерапії [9].

4. Визначення залежностей у ракових клітинах. Розуміння резистентності до імунотерапії вимагає аналізу взаємодії між механізмами, притаманними раковим клітинам, і зовнішніми факторами, включаючи клітинні та гуморальні компоненти. Ці внутрішні й зовнішні компоненти різняться залежно від виду

імунотерапії: блокада контрольних точок, адаптивна клітинна терапія, біспецифічні Т-клітинні антитіла чи вакцини проти раку. Прикладом є застосування антагоністів естрогенових рецепторів і CDK4/6 при лікуванні естроген-позитивного раку молочної залози. Інтеграція великих клініко-геномних баз даних із результатами скринінгів синтетичної летальності та комп'ютерного моделювання може одного дня створити референс-збірник залежностей для різних видів раку. Це дозволить за допомогою аналітики прогнозувати та раціонально вибирати комбінації лікарських засобів. Для більшості інших видів раку, які мають кілька домінуючих драйверів та численні механізми резистентності, найкращі комбінації й послідовності терапії залишаються невизначеними. У таких випадках стратегії, що включають одночасне таргетування кількох основних мутацій, або виявлення високого рівня синтетичних летальних взаємодій, можуть допомогти створити нові ефективні схеми лікування [9].

1.8 Експресія мікроРНК при раку яєчників

1.8.1 Загальні відомості про мікроРНК

Відносно нещодавно відкриті мікроРНК є некодуючими РНК короткої нуклеотидної послідовності (20-25 нуклеотидів). Їх можна виявити як в пухлинній тканині так і в крові та вони є відповідальними за експресію близько 30% кодуючих генів людини, а також регулюють експресію і інших мікроРНК [11,182]. Формування зрілої мікроРНК починається у ядрі клітини. Спершу, утворюється первинна мікроРНК (primary (pri)miRNA), з якої під впливом ферменту Drosha формується пре-міРНК (pre-miRNA). Після цього pre-miR транспортується у цитоплазму, де формування зрілої мікроРНК завершує фермент Dicer [183]. Регуляція експресії генів відбувається шляхом пригнічення трансляції генів-мішеней або деградації мРНК мішеней [184]. МікроРНК зв'язується за принципом комплементарності з 3'-

нетрансляючими ділянками мРНК, і таким чином зумовлює її руйнування або зупиняє трансляцію. Різні мРНК можуть мати кілька доменів зв'язування з різними мікроРНК, а одна мікроРНК може регулювати експресію кількох мРНК [185]. Відповідно мікроРНК можуть бути спільними для різних локалізацій пухлин та впливати на їхній ріст подібним чином. Існує декілька механізмів, згідно яких зміни в мікроРНК впливають на пухлинний ріст [186]:

1. делеція чи епігенетичний гальмуючий вплив на локус транскрипції мікроРНК, що призводить до супресії вибраного гена
2. точкова мутація в мікроРНК чи її попереднику, що призводить до гальмування процесингу
3. ампліфікація геному або транслокація локусу мікроРНК, що призводить до пригнічення супресивного впливу гена-мішені на пухлину
4. зміна в 3'-нетрансляючому кінці мРНК разом з пригніченням її експресії

МікроРНК здатні регулювати відповідь пухлини на лікування, а отже і впливати на прогноз пацієнта. МікроРНК регулюють чутливість пухлини до хіміотерапії [182] та променевої терапії [187]. Загалом, велика кількість літературних джерел підтверджує роль мікроРНК як індикатора прогнозу для пацієнтів з раком, зокрема РЯ [12]. Таким чином мікроРНК потенційно можна використовувати для діагностики, оцінки прогнозу та лікування пацієнтів з різними формами злоякісних новоутворень.

Близько 50% мікроРНК розташовані в ділянках хромосом, зміни в яких асоційовані з початком онкогенезу. Ушкодження ДНК зумовлює порушення в регуляції мікроРНК [188]. МікроРНК регулюють проліферацію, диференціацію, апоптоз, метаболізм та розвиток клітини [182,189,190]. Тобто, мікроРНК бере безпосередню участь у регуляції процесу онкогенезу. Проте, мікроРНК можуть виступати як у ролі каталізатора онкогенезу, так і в ролі антионкогенного фактора [191–193]. МікроРНК відіграють роль не лише у формуванні злоякісних новоутворень, а й у розвитку серцевосудинних,

нейродегенеративних захворювань, змін сітківки [194]. Через свій вплив на активність експресії генів організму, можливі зміни в експресії мікроРНК, як у бік збільшення, так і зменшення, призводять до порушення формування тканин в ембріональному та постнатальному розвитку [195].

Рівень експресії деяких мікроРНК зумовлює резистентність пухлини до хіміопрепаратів [182,196] та променевої терапії, наприклад порушення експресії мікроРНК-200b асоційоване із розвитком резистентності до цисплатину при нейробластомі, аденокарциномі підшлункової залози та пухлин яєчка [197]. Деякі мікроРНК (зокрема мікроРНК-21) можуть виступати як у ролі інгібітора пухлинної чутливості до хіміопрепаратів, так і сприяти терапевтичному впливу інших препаратів при лікуванні пухлин тих самих чи інших локалізаціях [198].

В ході цієї роботи основна увага приділялась циркулюючій мікроРНК у крові як варіанту рідинної біопсії, що є перспективним методом діагностики та прогнозу для пацієток з РЯ. МікроРНК виділяються клітинами, циркулюють у біорідинах та можуть поглинатись іншими клітинами. МікроРНК можна виявити не лише в пухлинній тканині, а й у вигляді екзосом у рідинах організму (кров, сеча, слина, харкотиння, молоко) [193]. З-поміж коротких нуклеотидних послідовностей, знайдених у крові (тРНК, міРНК, мікроРНК), мікроРНК є найбільшою фракцією, разом з цим, мікроРНК присутні як в сироватці крові так і в клітинах крові [199]. МікроРНК самі по собі є нестабільними сполуками та швидко деградують під впливом РНКаз, що є у крові, тому циркулюючі форми мікроРНК перебувають зв'язані з РНК-зв'язувальними протеїнами, ліпопротеїнами високої щільності або знаходяться у інкапсульованому вигляді у екстрацелюлярних везикулах [200].

Забір біорідини, так звана «рідинна біопсія», має ряд виражених переваг, порівняно з стандартною тканинною біопсією: пухлинна тканина характеризується високою гетерогенністю, визначити яку складно лише з одного біоптату пухлинної тканини; «рідинна біопсія» є малоінвазивною та

може бути легко проведена повторно. Джерело мікроРНК в крові досі залишається дискусійним. Незрозуміло чи мікроРНК вивільняються з клітин, внаслідок їх руйнування чи секретуються через клітинну мембрану [191]. Цікаво, що такі екзосоми слугують для міжклітинної взаємодії та можуть активувати інші пухлинні клітини [183]. Деякі дослідження вказують на те, що «вільні» (позаклітинні) мікроРНК дуже відрізняються від тих, що наявні в їх материнській клітині. Деякі з мікроРНК взагалі можуть бути не експресуватись материнською клітиною. Не зважаючи на це, мікроРНК довели свою цінність як біомаркери для діагностики пухлинного процесу – їх експресія має виражену кореляцію з стадією процесу, його поширеністю [191]. Цікаво, що одна мікроРНК є недостатньо специфічною – її експресія може бути характерною одразу для пухлин кількох локалізацій. Тому для точного визначення походження мікроРНК рекомендується оцінювати панель мікроРНК, експресія яких є характерною для конкретного органу [201]. Деякі мікроРНК є наявними лише у чоловіків чи жінок, проте більшість з них є спільними для обох статей та не відрізняються між собою за рівнем експресії [199].

МікроРНК характеризуються високою стійкістю у сироватці/плазмі периферичної крові, зокрема до повторних циклів заморожування-відтаювання, зміни рН та тривалого зберігання [199]. Станом на зараз, вже доведений зв'язок між експресією мікроРНК у рідинах чи пухлинній тканині та онкозахворюванням [202]. Така кореляція прослідковується для колоректального раку [199,200], раку грудної залози [200], раку простати [203], гепатоцелюлярної карциноми [197,200], раку підшлункової залози [200], легень [204], сарком м'яких тканин [205], гемобластозів [197]. У випадку раку підшлункової залози [200] за допомогою мікроРНК вдалось диференціювати здорову залозу від такої з хронічним панкреатитом та раком підшлункової. Подібні дослідження показали аналогічну ефективність мікроРНК для грудної

залози [206]. Експресія мікроРНК може бути також використана для діагностики серцево-судинних захворювань [207] та діабету [204].

МікроРНК, що виявляються дерегульованими при пухлинах яєчників поділені на групи (родини): родина miR-221 (miR-221, 222), родина miR-10 (miR-10a,b,c), родина miR-520 (miR-93, 105, 106, 291, 294, 295, 302, 373, 520), родина miR-29 (miR-29a,b,c,d), родина miR-200 (miR-200a,b,c, miR-429, 141), родина let-7 (let-7a,b,c,d,e,f,g,i, miR-98) та родина miR-16 (miR-15, 16, 195, 322, 424, 497) [196,208]. Проте, мікроРНК однієї родини можуть володіти протилежними властивостями – пригнічувати ти стимулювати ріст та прогресію пухлини.

Рівні ферментів Dicer та Drosha, що є відповідальними за процесинг мікроРНК, є знижені у тканинних зразках пацієток з РЯ, на 60% та 51% відповідно, що мало негативний прогноз для пацієток [209]. В іншому дослідженні [210] було встановлено, що високий рівень вказаних ферментів асоціюється з більшою медіаною виживаності серед пацієток з РЯ. Натомість у дослідженні такої кореляції не було помічено [211]. Автори вважають, що причиною цього стала розбіжність у включенні чи не включенні різних гістологічних підтипів РЯ до схеми дослідження [185]. Vaksman et al. досліджували рівень мікроРНК-регулюючих білків Argonaute (Ago 1 та Ago 2), а також Dicer та Drosha у перитонеальному випоті, метастазах та первинній пухлині. Вони встановили, що експресія усіх 4-ох матричних РНК (мРНК) була вищою у випоті, ніж в первинній пухлині. На думку дослідників, Ago 1 та Ago 2 є дотичними до прогресування РЯ, проте, як і Flavin et al. автори не вважають, що існує кореляція між експресією мРНК Dicer і Drosha у випоті чи метастазах та хіміочутливістю і виживаністю пацієток [212]. Іншого висновку дійшли Kuang et al., стверджуючи, що Dicer пригнічує проліферацію та міграцію клітин та збільшує їхню чутливість до цисплатину [210]. Liu N. et al. припускають, що зменшення експресії Dicer зумовлює пригнічення

експресії усіх мікроРНК без винятку, що може зумовити активність онкосупресивних генів [213].

мікроРНК однієї родини часто володіють різними властивостями в процесі онкогенезу, а їх експресія в крові та пухлинній тканині потребує детальнішого вивчення. Найчастіше у статтях, у контексті РЯ, фігурують мікроРНК групи 200 та let-7. У ході огляду літератури було відібрано родини мікроРНК-200 та Let-7 як найбільш вивчені та «найперспективніші» мікроРНК для подальшого дослідження.

1.8.2 Практична цінність визначення експресії родин мікроРНК 200 та let-7 у пацієнток з раком яєчників

1.8.2.1 Родина мікроРНК-200

З-поміж відомих зараз мікроРНК яєчників важлива роль у регуляції карциногенезу була помічена у групи мікроРНК 200. Водночас, існують кардинальні розбіжності стосовно безпосередньої функції окремих членів даної групи. Для мікроРНК групи 200 є характерним розташування її членів на 2 локусах різних хромосом: miR-200a, miR-200b, miR-429 розташовані разом на 1-ій хромосомі, а miR-200c та miR-141 на 12-ій хромосомі [191]. Ну Х et al. [214] припускає можливість спільної експресії та регуляції мікроРНК групи 200 розташованих на 1-ій хромосомі. Цілком імовірно, що мікроРНК 1-ї хромосоми відіграють подібну роль у процесі карциногенезу. Це дає можливість припустити, що члени родини мікроРНК-200, які розташовані на 12-ій хромосомі володіють подібними характеристиками ко-регуляції та ко-експресії.

Родина мікроРНК відповідає за епітеліально-мезенхімальний перехід (ЕМП) та його зворотнє явище – мезенхімально-епітеліальний перехід (МЕП). Під впливом дисрегульованих мікроРНК може спостерігатись порушення цієї рівноваги та спричинити карциногенез. Гени Zinc finger E-box-binding homeobox 1 (*ZEB1*) та Zinc finger E-box-binding homeobox 2 (*ZEB2*)

безпосередньо відповідають за регуляцію ЕМП та МЕР процесів шляхом пригнічення експресії Е-кадгерину – елементу міжклітинного зв'язування та міграції клітин [215]. Родина мікроРНК-200 та ZEB1/ZEB2 впливають на експресію один одного шляхом взаємної зворотної регуляції – таким регуляторним механізмом рівень мікроРНК-200 може пригнічувати експресію обох генів та навпаки [216]. Порушення цього механізму регуляції можуть спричинити зміни у пластичності клітини та спровокувати поширення метастазів. Цікаво, що за певних умов, незважаючи на низький рівень Е-кадгерину, мікроРНК-200с може пригнічувати проліферацію, міграцію та інвазію клітин [217]. Під час експериментів з мишами високий рівень експресії мікроРНК-200с на початкових стадіях росту пухлини спричиняв суттєво краще зменшення пухлини, ніж при збільшенні рівня мікроРНК-200с у вже сформованій пухлині [218]. Експресія мікроРНК-200с спостерігалась у запальному компоненті популяції клітин, що також свідчить на користь залученості цієї мікроРНК у регуляцію запалення, а отже і інвазії [215]. Розташування HuR РНК-зв'язуючого протеїну у клітині мало опосередкований вплив на функцію мікроРНК-200с по відношенню до експресії гена *TUBB3*. У пацієток з високим рівнем miR-200с та *TUBB3* прогноз був гіршим: безрецидивний період та виживання були коротшими. Такий механізм взаємодії мікроРНК з клітинними білками може бути поясненням розбіжностей у функції однакових мікроРНК у різних дослідженнях [219].

Це твердження частково підтверджується у ряді досліджень з пухлинною тканиною та клітинними лініями. Немає одностайного твердження стосовно ролі miR-200a в прогресії РЯ. У ряді досліджень було виявлено підвищений рівень тканинної експресії miR-200a на поширених стадіях РЯ (III-IV) [220–222]. Натомість, у ряді досліджень було помічено, що експресія miR-200a знижується з прогресуванням захворювання [223]. Suo et al. [224] виявили достовірне збільшення експресії мікроРНК у пацієток з РЯ, проте не

надають даних стосовно зміни експресії в залежності від стадії захворювання. Цікаво, що експресія miR-200a присутня не лише при РЯ, проте вона зростає порівняно з здоровими тканинами [225] та доброякісними пухлинами яєчників [216]. Подібна розбіжність результатів досліджень спостерігається і стосовно експресії miR-200a та залученості лімфатичних вузлів у процес. Знижений рівень miR-200a спостерігався при інтактних лімфовузлах та зростав при метастазуванні у лімфовузли [224,225], що свідчить про miR-200a як про карциногенну мікроРНК. У той же час, у декількох дослідженнях вищий рівень miR-200a спостерігався у пацієток без ураження лімфатичних вузлів [216,223] та у пацієток з наявністю асцити [223]. Такі розбіжності найімовірніше спричинені різними способами консервації біоматеріалу: свіжозаморожені тканини у одних дослідженнях [216] та тканини фіксовані у парафіні – у інших [223]. Інша група дослідників не вказує які саме методи консервації тканин використовувались у ході дослідження. Таким чином, використання вдалого методу консервації може бути вкрай важливим для подальших досліджень мікроРНК [226].

Серед опрацьованої літератури дуже мало даних про кореляцію рівня тканинної miR-200c та стадією РЯ. До прикладу, одна група дослідників [227] встановила, що експресія miR-200c є вищою на I-II стадії, порівняно з III-IV стадією. На противагу цьому є свідчення [222], що рівень miR-200c є підвищеним на III-IV стадії.

Експресія miR-200b є вищою у клітинах РЯ, порівняно зі здоровими клітинами [228]. Ця мікроРНК по-різному представлена у пухлинній тканині пацієток з РЯ – було помічено, що експресія miR-200b є підвищеною у пухлинній тканині при I стадії РЯ та є гіпоекспресована при III стадії [229]. Це свідчить про miR-200b як про онкосупресивну мікроРНК, а пригнічення її експресії супроводжується прогресуванням РЯ. Така розбіжність у результатах досліджень може пояснюватись різним матеріалом, що використовувався – клітинні лінії та пухлинна тканина.

Рівні експресії miR-141 та miR-429 були вищими у клітинах РЯ, порівняно з здоровими клітинами [230]. Подібних результатів було досягнуто і у дослідженні з пухлинною тканиною [214].

Рівень експресії членів родини мікроРНК-200 може слугувати прогностичним фактором виживаності пацієток. Зокрема, підвищена тканинна експресія miR-200a корелювала з нижчою загальною виживаністю і безрецидивним періодом [222]. Одночасна гіперекспресія miR-200a,c,b спосетрігалась у жінок з нижчою загальною виживаністю [231]. У той же час гіперекспресія miR-200a характерна для жінок зі здовженою загальною виживаністю та безрецидивною виживаністю [229,231]. Подібні результати продемонстровані у дослідженнях Hu X et al. та Sun et al., у яких жінки з низьким рівнем тканинної експресії miR-200a мали нижчу загальну виживаність [214,223] та коротший безрецидивний період [214] (Таблиця 1.1). Попри ці результати, у ряді досліджень було виявлено знижену [216,220] чи підвищену [232,233] тканинну експресію miR-200a, проте не досліджувалась кореляція рівня мікро РНК та виживаність пацієток. А деякі з дослідників не виявили залежності між рівнем експресії miR-200a та виживаністю пацієток [232,234]. Загалом, ці дані дозволяють припустити, що у більшості випадків експресія miR-200a супроводжувала процеси карциногенезу та мала клінічне значення для прогнозу пацієток (Таблиця 1.2). Тим не менш, дане питання потребує подальших досліджень.

| | | | |
|---------------------|---|---------------------------------|-------------------|
| Дере гуля ція | Клінічна значимість | Матері ал дослід ження | Посила ння |
| ↑ | Здовжена виживаність. Експресія зменшується разом із прогресуванням хвороби | Пухли нна | Eitan R et al. |

| | | | |
|---|---|-----------------------------|--|
| | | тканин | |
| | | a | |
| ↑ | Підвищує чутливість до таксанів | In vitro, Liu N et al. | |
| | | in vivo | |
| ↑ | Здовжена загальна виживаність та безрецидивний період, підвищена чутливість до таксанів | In vitro, Mateescu B et al. | |
| | | in vivo | |
| ↓ | Знижена загальна виживаність. Експресія вища на стадіях I-II, знижується разом із метастазуванням у лімфовузли, утворенням асцитів. Відсутній зв'язок між ступенем, розміром, гістологічним підтипом пухлини та експресією мікроРНК | In vitro, Sun Q et al. | |
| | | на пухлин | |
| | | тканин | |
| | | a | |
| ↓ | Експресія при РЯ > доброякісні новоутвори. Стадії I-II > стадії III-IV. Інтактні лімфовузли > метастатично уражені лімфовузли, низький ступінь злоякісності > високий ступінь. Відсутній зв'язок з гістологічним підтипом. | In vitro, Xu S et al. | |
| | | на пухлин | |
| | | тканин | |
| | | a | |
| ↓ | Знижена загальна виживаність та безрецидивний період | In vitro, Hu X et al. | |
| | | на пухлин | |
| | | тканин | |
| | | a | |

Таблиця 1.1. Дані на користь онкосупресивної ролі miR-200a

| | | | |
|-----|---------------------|----------|--------|
| Дер | Клінічна значимість | Матеріал | Посила |
| егу | | дослідже | ння |
| ляц | | ння | |
| ія | | | |

| | | | |
|---|--|-----------------------------------|-----------------|
| ↑ | Знижена загальна виживаність та безрецидивний період | Tissue samples | Nam EJ et al. |
| ↑ | РЯ високого ступеня злоякісності, стадії III-IV, | In vitro, tissue samples | Yang H et al. |
| ↑ | Експресія при РЯ > здорові пацієнти. Стадії III-IV > стадії I-II. Метастатично уражені лімфовузли > неушкоджені лімфовузли, високий ступінь злоякісності > низький ступінь | In vitro, tissue samples | Zhu CL et al. |
| ↑ | Експресія підвищується при РЯ, метастазуванні в лімфовузли. Відсутня залежність від ступеня злоякісності | In vitro, tissue samples | Suo HB et al. |
| ↑ | Експресія вища на стадіях III-IV, у пухлинах високого ступеня злоякісності. Відсутній зв'язок із гістологічним підтипом, залишковою пухлинною масою чи рецидивом РЯ | In vitro, in vivo, tissue samples | Cao Q et al. |
| ↑ | Експресія при РЯ > здорові клітини | In vitro | Wyman SK et al. |

Таблиця 1.2 Дані на користь онкосупресивної ролі miR-200a

У ряді досліджень було помічено високу [232,235] експресію miR-200c у пухлинній тканині чи клітинних культурах. Результати стосовно залежності рівня експресії miR-200c та прогнозу пацієток також суперечливі: гіперекспресія характерна для жінок з довшою загальною виживаністю та безрецидивним періодом [232] (Таблиця 1.3) чи навпаки – з нижчою [222,235] (Таблиця 1.4). Одна група дослідників виявила експресію miR-200c-3p лише у жінок з high-grade серозним та світлоклітинним гістологічними підтипами РЯ. Дослідники встановили негативну зворотню кореляцію поміж рівнем miR-200c-3p та прогнозом лише для групи пацієток з серозним підтипом РЯ [236].

Ці результати вказують на потенційну залученість miR-200c у прогресування раку, проте потребують більш детального вивчення.

| Дерегуляція | Клінічна значимість | Матеріал дослідження | Посилання |
|-------------|---|-----------------------------------|---------------------|
| ↑ | Знижена частота рецидивів і прогресування | Tissue samples | Leskelä S et al. |
| ↑ | Підвищена чутливість до паклітакселу. Підсилення проліферації, пригнічення міграції та інвазії клітин | In vitro | Cochran e DR et al. |
| ↑ | Залежно від локалізації білка HuR у клітині викликає різні результати: при локалізації в ядрі клітини підвищує чутливість до паклітакселу та цисплатину, що сприяє кращому прогнозу для пацієнтів; цитоплазматична локалізація передбачає несприятливий прогноз | In vitro | Prislei S et al. |
| ↓ | Знижена чутливість до цисплатину | In vitro, in vivo, tissue samples | Liu J et al. |
| ↑ | Підвищена чутливість до паклітакселу, зниження чутливості до карбоплатину | In vitro | Brozovic A et al. |
| ↑ | Гіперчутливість до паклітакселу, епотілону В, вінкристину. Відсутність впливу на цисплатин, доксорубіцин, мітоміцин С. Знижує міграцію та інвазію. Не впливає на проліферацію | In vitro | Cochran e DR et al. |

| | | | |
|---|--|-----------------------------------|--------------------|
| ↑ | Підвищена чутливість до паклітакселу | In vitro | Cittelly DM et al. |
| ↑ | Експресія вища на стадіях I-II РЯ, з інтактними лімфовузлами. Гіперекспресія пригнічує міграцію та інвазію | In vitro, in vivo, tissue samples | Lu YM et al. |
| ↓ | Знижена загальна виживаність і безрецидивна виживаність | Tissue samples | Marchini S et al. |

Таблиця 1.3 Дані на користь онкосупресивної ролі miR-200c

| Дерегуляція | Клінічна значимість | Матеріал дослідження | Посилання |
|-------------|---|----------------------|-------------------|
| ↑ | Знижена загальна виживаність і безрецидивна виживаність | Tissue samples | Nam EJ et al. |
| ↑ | Знижена загальна виживаність і безрецидивна виживаність. Відсутній зв'язок із рівнем СА-125 | Tissue samples | Elgaaen BV et al. |
| ↑ | Знижена загальна виживаність. Вища експресія на стадіях III-IV. Не виявлено кореляції з градацією, гістологічним підтипом РЯ, розміром пухлини та віком пацієнтів | Tissue samples | Caо Q et al. |

Таблиця 1.4. Дані на користь карциногенної ролі miR-200c

Високі рівні miR-200b у сироватці крові [237] та тканині [222,235] асоціюються з нижчими показниками загальної та безрецидивної

виживаности. Ці знахідки чітко вказують на miR-200b як на карциногенну мікроРНК (Таблиця 1.5).

Гіперекспресія miR-141 та miR-429 може слугувати фактором прогнозу зниженої безрецидивної та загальної виживаности [235]. На підтвердження цьому інша група дослідників виявили вищу експресію miR-429 у клітинах РЯ, порівняно з здоровими клітинами [228]. У той же час, деякі результати досліджень вказують на те, що miR-141 та miR-200a можуть бути факторами сприятливого прогнозу для пацієток [231,232] (Таблиця 1.5). Обидві групи авторів використовували різні методики для збереження біоматеріалу, що, знову ж таки, може бути причиною розбіжності у результатах досліджень.

| мікроРНК | Клінічна значимість | Посилання |
|------------------|---|---|
| К | | |
| miR-200b | - Знижує загальну виживаність і безрецидивну виживаність | Nam EJ et al. |
| | - Знижує загальну виживаність; експресія підвищується на стадіях III-IV, РЯ високого ступеня злякисності. Відсутня кореляція з віком пацієнтів, розміром пухлини та її гістологічним підтипом | Caо Q et al. Mateescu B et al. Liu N et al. |
| | - Ймовірно збільшує чутливість до паклітакселу | Wуman SK et al. Eitan R et al. |
| | - Підвищена експресія збільшує чутливість до цисплатину | |
| | - Експресія в РЯ вища, ніж у здорових клітинах | |
| | - Експресія вища на стадії I порівняно зі стадією III | |
| miR-141, -429 | - Гіперекспресія знижує загальну виживаність і безрецидивну виживаність | Nam EJ et al. |

| | | |
|---------|---|--|
| | - Експресія в ракових клітинах вища, ніж у здорових | Wyman SK et al. Mateescu B et al. |
| miR-141 | - ↑ експресія подовжує загальну виживаність і безрецидивну виживаність, збільшує чутливість до паклітакселу | Brozovic A et al. Van Jaarsveld MT et al. |
| | - ↑ експресія підвищує чутливість до паклітакселу та знижує її до карбоплатину | Leskelä S et al. |
| | - Провокує резистентність до препаратів платини | Wang L et al. |
| miR-429 | - ↓ експресія знижує загальну виживаність і безрецидивну виживаність | |
| | - ↑ експресія збільшує чутливість до цисплатину | |

Таблиця 1.5 Клінічна значимість miR-200b, -141, -429

Не виявлено кореляції між ступенем диференціації пухлини та експресією членів родини мікроРНК-200 у пухлинній тканині, за винятком miR-200b [222]. Не виявлено кореляції поміж рівнем експресії miR-200a [223,224], miR-200c,b [222] та розміром пухлини. Висока експресія miR-200a була характерною для жінок з серозним high-grade РЯ [220,225]. У той же час інша група дослідників виявила знижену експресію miR-200a у жінок з серозним high-grade РЯ у порівнянні з жінками з жінок з серозним low-grade РЯ [216]. Такі розбіжності результатів досліджень можуть бути наслідком різної техніки консервації біоматеріалу. Кількість спостережень в обох групах також лишається невідомою. Суперечливим залишається і взаємозв'язок між експресією мікроРНК та гістологічним підтипом РЯ. Більшість досліджень заперечують існування такого взаємозв'язку [216,223]. В одному з досліджень [238] спостерігалась підвищена експресія miR-200a, с у серозних, ендометріюїдних та світлоклітинних гістологічних підтипах РЯ. В даному

випадку причиною розбіжностей також може бути різна техніка консервації матеріалу – тканина фіксована у парафіні [223] та свіжозаморожена тканина [238]. Один з авторів не вказує використану техніку консервації тканин. miR-200b була характерною для світлоклітинного [236], ендометріюїдного та серозного підтипів РЯ [238]. Підвищена експресія miR-141 спостерігалась у жінок з ендометріюїдним та серозними підтипами РЯ [219].

Загалом, роль родини мікроРНК-200 у процесах карциногенезу є різною. Судячи з усього, техніки консервації біоматеріалу є, ймовірно, основною причиною розбіжностей результатів досліджень з мікроРНК та потребують уніфікації для отримання достовірних даних у майбутньому.

1.8.2.2 Родина мікроРНК let-7

Члени родини мікроРНК let-7 були одними з перших мікроРНК для кого було встановлено онкосупресивну роль у процесах карциногенезу [239]. Група мікроРНК let-7 складається з 12 членів, розташованих на восьми локусах хромосом: хромосома 3 – let-7g; 9 – a-1, d, f-1; 11 – a-2; 12 – i; 19 – e; 21 – c; 22 – a-3,b; x – f-2, miR-98 [240]. Порівняно з групою мікроРНК 200, група let-7 є менш дослідженою, проте її роль в карциногенезі залишається безсумнівною. Дерегуляція групи let-7 була виявлена при медулобластомі, раку грудної залози, РЯ, меланомі та недрібноклітинному раку легень, що свідчить про роль родини мікроРНК у карциногенезі раку багатьох локалізацій [240]. Знижена експресія let-7e, let-7f, let-7d, let-7c, let-7a-e, let-7i, let-7a, let-7b у пухлині та знижена експресія let-7f, let-7d, let-7a-e у лініях клітин [241], пригнічення росту клітин та менша залученість лімфатичних вузлів у злоякісний процес [240] свідчить на користь онкосупресивної ролі даної родини мікроРНК (Таблиця 6).

Всі опрацьовані нами дослідження сходяться на онкосупресивній ролі let-7i. Її низька експресія в тканині була характерною для пацієнток з гіршим прогнозом [242], коротшим безрецидивним періодом [239]. Низька експресія

let-7i у пацієток з РЯ [241] може, в тому числі, опосередковано вказувати на її онкосупресивну роль. Зниження експресії let-7i пов'язують, у тому числі, з глибиною інвазії та метастазуванням у лімфатичні вузли у пацієнтів з раком шлунка. Langhe R et al. висловлюють припущення, що аналогічну роль let-7i може відігравати у пацієток з РЯ [243]. Гіперекспресія let-7i асоціюється з нижчою проліферацією, міграцією та інвазією ліній клітин РЯ [244]. Не вдалось знайти даних, що описували б кореляцію експресії let-7i та прогресуванням захворювання, ступенем диференціювання пухлини у пацієток з РЯ. Однак, є дані що свідчать, що let-7i здовжує безрецидивну та загальну виживаність шляхом негативної регуляції генів Toll-like receptor 4 (TLR4) та MyD88 [245].

Більшість дослідників стверджують про підвищену експресію let-7a у пухлинній тканині [246,247]. Всупереч цьому інша група дослідників виявила знижену експресію let-7a *in vitro* та у пухлинній тканині [241]. Обое дослідницьких груп порівнювали різні кількості матеріалу у своїх роботах. Більш того, перша група не використовувала клітинних ліній у своєму дослідженні. Ряд досліджень продемонстрували необхідність оцінювати у клінічній практиці let-7a у комбінації з Lin28B та інсуліноподібним фактором росту 2 (IGF-II), оскільки їх одночасна підвищена експресія зумовлювала вищу частоту рецидивів та вищу загальну смертність у пацієток, що отримували лікування паклітакселом та препаратами платини [248]. Що, у свою чергу, може свідчити про негативну регуляцію чутливості клітин РЯ до препаратів хіміотерапії I лінії. Висока експресія let-7a-3 опосередковано знижувала загальну виживаність на 40%, проте не впливала на прогресування РЯ [248]. Висока експресія Lin28B має гірший прогноз для пацієток, порівняно з дерегуляцією будь-якого іншого компоненту осі. Низька експресія Lin28B корелювала з меншою агресивністю РЯ, нижчою злоякісністю пухлини та кращою відповіддю на хіміотерапію, у той час як висока експресія IGF-II

корелює з гіршою виживаністю та чутливістю до паклітакселу, ніж низька, а let-7a не впливає на виживаність [247].

| мікроРН | Клінічна значимість | Посилання |
|----------|---|----------------------------------|
| Let-7i | - Знижена експресія скорочує безрецидивну виживаність і загальну виживаність, знижує чутливість до цисплатину | Yang N et al. Liu N et al. |
| | - Підвищена експресія збільшує чутливість до паклітакселу | Helland Å et al. |
| | - Знижена експресія погіршує прогноз для пацієнта | |
| Let-7a | - Гіперекспресія знижує загальну виживаність, чутливість до препаратів платини та таксанів | Lu L et al. Lu L et al. |
| | - Гіперекспресія збільшує чутливість до препаратів платини, але знижує чутливість до таксанів | Tsang WP et al. |
| | - Знижує чутливість до таксанів, доксорубіцину, інтерферону α | Lu L et al., Lu L et al. |
| | - Let-7a слід розглядати разом із Lin28B та IGF-II, причому Lin28B є основним елементом і найгіршим прогностичним фактором при гіперекспресії | |
| Let-7d,c | - Знижена експресія погіршує прогноз для пацієнта | Helland Å et al. |
| Let-7e | - Знижена експресія скорочує безрецидивну виживаність і загальну виживаність, знижує чутливість до цисплатину | Xiao M et al. Kuang YA et al. |
| | - збільшує чутливість до цисплатину | Sorrentino A et al. |

| | | |
|--------|--|--------------------|
| | - Підвищена експресія знижує чутливість до паклітакселу | Helland Å et al. |
| | - Знижена експресія погіршує прогноз для пацієнта | |
| Let-7d | - Знижена експресія погіршує прогноз для пацієнта | Helland Å et al. |
| | - Характеризується як онкосупресивна мікроРНК | Boyerinas B et al. |
| Let-7g | - Здовжує безрецидивну виживаність. Збільшує чутливість до паклітакселу та вінбластину, не впливає на чутливість до карбоплатину | Boyerinas B et al. |
| Let-7f | - Знижена експресія погіршує прогноз для пацієнта | Helland Å et al. |

Таблиця 1.6. Клінічна значимість мікроРНК родини let-7

1.8.3 Вплив мікроРНК на чутливість до хіміотерапії через регуляцію експресії генів

1.8.3.1 МікроРНК родини 200

МікроРНК можуть впливати на чутливість пухлин до хіміотерапії шляхом регуляції експресії генів. А саме, було виявлено, що гіперекспресія miR-200a сприяє чутливості до паклітакселу, шляхом пригнічення гену мітоген-активууючої протеїнкінази 14 (*MAPK14*) та білка p38α [231]. Підвищена експресія miR-200a у клітинних лініях асоціювалась з вищою чутливістю до таксанів. Цікаво, що збільшення концентрації паклітакселу несуттєво вплинуло на хіміочутливість клітин [249].

У той час як miR-200a володіє чітко здатністю підвищувати чутливість до хіміопрепаратів (Таблиця 1.1), для miR-200c наводяться дещо суперечливі

дані. Тим не менш, рівень експресії miR-200c має беззаперечний вплив на чутливість пухлини до препаратів платини та таксанів. Дослідження *In vitro* продемонстрували 4-5 кратне зниження рівня експресії miR-200c від свого нормального рівня у тканинах, які були резистентними до паклітакселу. У той ж час miR-200c підвищуючи чутливість до таксанів, знижує чутливість клітин до карбоплатину [250]. Цей механізм залишається недостатньо вивченим. Ці результати співпадають з такими у Van Jaarsveld *et al* [251] які стверджують, що гіперекспресія miR-200c зумовлює незначну резистентність до цисплатину. Натомість, Liu J *et al* [252] вказує, що знижена експресія miR-200c корелює з зниженням чутливості до цисплатину *in vitro*, *in vivo* та ретроспективно, на основі тканинних зразків пацієток з РЯ. Шляхом пригнічення TUBB3, miR-200c збільшує чутливість до паклітакселу [217,219] та цисплатину [219]. Ця теза була підтверджена і в іншому дослідженні, де використовувались зразки пухлин – нижча експресія miR-200c була характерною для пацієток з гіршою відповіддю на лікування РЯ препаратами першої лінії (таксани та препарати платини) [232]. Подібний механізм регуляції хіміочутливості досліджувався у ході іншого експерименту, в якому miR-200c збільшувала ефективність препаратів *in-vitro*, що впливають на систему мікротрубочок клітини, зокрема, до паклітакселу (на 82-85%), вінкристину (33-35%) та епотілону В (43-50%) [253]. Таким чином, miR-200c володіє беззаперечно позитивним впливом на чутливість клітин РЯ до таксанів (Таблиця 1.3). Виявлений негативний вплив miR-200c на чутливість до препаратів платини може бути спричинений неоднорідністю клітинних ліній, що використовувались у ході дослідження Brozovic *et al* [250]. Така розбіжність результатів може бути наслідком різним розташуванням HuR у клітині, про що згадувалось у дослідженні [219].

Не виявлено залежності між експресією miR-200b та чутливістю клітин РЯ до таксанів. Хоча miR-200b володіє такою ж здатністю впливати на клас III β -tubulin, як і всі інші представники родини мікроРНК 200. Таким чином, miR-

miR-200b може впливати на опосередковано на чутливість РЯ до таксанів [232]. В ході іншого дослідження було продемонстровано, що збільшення експресії miR-200b зумовлювало збільшення чутливості до цисплатину (Таблиця 1.5) [252].

Було виявлено, що гіперекспресія miR-141 сприяє чутливості до паклітакселу шляхом інгібування гена MAPK14 та білка p38 α [231]. Позитивний вплив miR-141 на чутливість до таксанів при раку яєчників також підтверджено дослідженнями *in vitro* [250]. Подібно до miR-200c, miR-141 також знижує чутливість клітин до карбоплатину, одночасно підвищуючи чутливість до таксанів. Знижена експресія miR-141 *in vitro* призводила до збільшення резистентності до паклітакселу у 4–5 разів, і навпаки – після введення miR-141 чутливість до паклітакселу підвищувалася [250]. Негативний вплив miR-141 на чутливість клітин до препаратів на основі платини підтверджений іншою групою дослідників, яка вказала, що надекспресія miR-141 спричиняє резистентність до препаратів на основі платини шляхом інгібування експресії білка Kelch-like ECH-associated protein 1. Існує припущення про наявність негативного зворотного зв'язку між цисплатином і miR-141. Цисплатин викликав тимчасове підвищення експресії miR-141, рівень якого повертався до норми через 24 години [251]. Так само, як і для miR-200c, miR-141 безсумнівно має позитивний вплив на хемочутливість до таксанів (Таблиця 1.5). Оцінений негативний ефект на препарати на основі платини, можливо, спричинений використанням різних ліній клітин раку яєчників у дослідженні.

miR-429 свідчить про сприятливий прогноз для лікування пацієнтів – було виявлено, що гіперекспресія miR-429 *in vitro* призводить до підвищення чутливості клітин до цисплатину (Таблиця 1.5) [254].

1.8.3.2 Мікро-РНК родини let-7

Деякі джерела визначають let-7i як регулятор чутливості до хіміотерапевтичних препаратів при РЯ. Зокрема, низький рівень експресії let-7i в тканинах та *in vitro* спричиняє низьку чутливість до цисплатину [239]. Також було виявлено, що прогестерон збільшує експресію let-7i в клітинних лініях SKOV-3 (клітинні лінії раку яєчників) і, як зазначають автори, бере участь у проліферації клітин та хемочутливості. Введення let-7i в клітинні лінії OVCAR-3 зменшувало життєздатність клітин на 36% і збільшувало апоптоз на 34% [213], а також збільшує чутливість клітинних ліній до PARP-інгібіторів, шляхом впливу на каскад відновлення гомологічної рекомбінації. А саме пригнічуючи експресію генів KRAS, MYC, IGF1 та E2F1 [244]. Включення let-7i до химерної конструкції з аптамером Mucin 1 збільшило проникність цього miRNA в клітини і призвело до підвищення ефективності (чутливості) до паклітакселу [213]. Променева терапія знижує терапевтичний ефект let-7 родини miRNA, який спостерігався під час хіміотерапії [255]. Цей зв'язок було виявлено при раку легень і, можливо, він також має місце при РЯ.

Роль let-7a у хемочутливості до РЯ була визначена у дослідженні, проведеному Lu et al [246]. Автори зазначають, що гіперекспресія цього miRNA може посилювати ефект препаратів на основі платини в монотерапії, але може негативно впливати на прогноз при комбінованому лікуванні (наприклад, перша лінія карбоплатин + паклітаксел). Деякі дослідження вказують, що let-7a знижує чутливість пухлин до паклітакселу. Це було підтверджено іншим дослідженням, де низька експресія Lin28B (від let-7a – Lin28B – IGF-II осі) корелювала з менш агресивним РЯ, меншою злоякісністю пухлини і кращою відповіддю на хіміотерапію. У протиположності, висока експресія IGF-II корелювала з низькою виживаністю та чутливістю до паклітакселу (проте сам let-7a не впливав на виживаність) [247]. Інша група дослідників виявила, що let-7a знижує клітинну чутливість до паклітакселу, доксорубіцину

та інтерферону альфа шляхом інгібування каспази-3 і, відповідно, зменшення апоптозу клітин [256]. Це дослідження проводилося на клітинах раку молочної залози та гепатоцелюлярної карциноми. Проте ці висновки можуть бути актуальними і для РЯ.

Серед членів родини let-7 п'ять асоціюються з хеморезистентністю у клітинній культурі. Усі вони проявляють різну експресію залежно від клітинних ліній, зокрема: let-7e – підвищена в лініях, резистентних до паклітакселу, але знижена в інших. Це може свідчити про негативне регулювання let-7e чутливості клітин до таксанів [257]. Роль let-7e у хіміочутливості до цисплатину підтверджена Xiao et al [258]. Дослідники показали знижену експресію let-7e в платинорезистентних клітинних лініях і надекспресію в платиночутливих клітинах [258]. Let-7e збільшує концентрацію цисплатину в клітинах на 20,2% і інгібує ріст пухлини *in vivo* [210]. Let-7e підвищує чутливість клітин до цисплатину шляхом інгібування гена Enhancer of zeste homolog 2, відповідального за експресію Dicer, який, у свою чергу, підвищує чутливість до цисплатину [210]. Родина let-7 також впливає на чутливість до таксанів за присутності гена Mitochondrial inner membrane protease subunit 1 – прямої мішені для let-7 у клітинах. Високий рівень let-7g підвищує чутливість до таксанів і вінбластину, але не впливає на чутливість до карбоплатину. let-7g впливає на хемочутливість через непряме інгібування мутації MDR1 (Multidrug resistance mutation 1). Пацієнти з високою експресією MDR1 мали коротший безрецидивний період порівняно з тими, у кого експресія MDR1 не змінювалася або знижувалася [259]. У відсутності MDR чутливість до хіміотерапії, здається, є незалежною від let-7g, що доводить їхній кумулятивний ефект. Експресія let-7d у пухлинах була нижчою під час повторних операцій [259], ймовірно, через зменшення маси пухлини. Знижена експресія членів родини let-7 була виявлена при РЯ, медулобластомі та раку молочної залози [240].

Рівень експресії членів родини let-7 є яскравим прикладом того, як тканинна експресія miRNA може бути використана як предиктор хіміотерапевтичної відповіді при РЯ (Таблиця 1.6). Низка даних свідчить, що цей ефект опосередкований тісним регулюванням експресії генів за допомогою цього мікроРНК. Для повного опису вже відомих і встановлення інших зв'язків між експресією let-7 і успішністю лікування потрібні додаткові дослідження.

1.8.4 Роль позаклітинної мікроРНК як предиктивного і прогностичного маркера

1.8.4.1 Родина мікроРНК 200

Рівень експресії miR-200a у сироватці крові став предметом багатьох досліджень. Усі автори повідомляють про збільшення експресії мікроРНК у сироватці пацієток з РЯ незалежно від стадії захворювання [237,260]. Не спостерігається встановлено кореляції між експресією miR-200a у сироватці крові та тривалістю загальної чи безрецидивної виживаності [234], розміром пухлини та рівнем онкомаркера СА-125 [234,261], застосуванням неoad'ювантного лікування [234], ступенем диференціації пухлини [260,261] чи ураженням лімфатичних вузлів [237,261]. Однак було виявлено кореляцію між підвищеною експресією miR-200a та наявністю віддалених метастазів, а також муцинозним підтипом РЯ [261]. Цікаво, що рівень miR-200a у сироватці крові був вищим у здорових жінок порівняно з жінками, які мали доброякісні пухлини яєчників [237].

Експресія miR-200c також спостерігається у сироватці пацієнтів із РЯ порівняно зі здоровими особами [234]. Крім того, рівень miR-200c у сироватці може допомогти відрізнити здорових жінок від тих, хто хворіє на РЯ (точність – 0,79, у порівнянні з 50% для СА-125) [230,260]. Рівень цієї мікроРНК може слугувати фактором прогнозу загальної виживаності: високий рівень miR-200c

спостерігається у пацієнтів із тривалішою загальною виживаністю [230]. Інша група дослідників, проте, спостерігала протилежні результати: високий рівень експресії miR-200c у сироватці пов'язаний із коротшою загальною виживаністю та безрецидивним періодом [237]. Не було знайдено кореляції між рівнями мікроРНК та віком пацієнтів, розміром пухлини, ефектом неoad'ювантного лікування, загальною виживаністю або безрецидивною виживаністю [234]. Одне з досліджень використовувало цільні зразки сироватки, тоді як інше аналізувало екзосоми, що може пояснити розбіжності у результатах. МікроРНК у периферичній крові перебувають у зв'язку з білками або в екзосомах [262]. Тому аналіз лише фракції екзосом може не відображати повний спектр позаклітинних мікроРНК. Крім того, поміж етнічними групами спостерігається різниця в експресії мікроРНК [263]. Невелика кількість зразків в одному з досліджень також могла вплинути на загальні висновки.

Рівень miR-200c у сироватці корелює з прогресією захворювання. Його експресія знижується від стадії I до стадії IV РЯ [230,253]. Натомість Meng et al [260] і Zuberi et al [261] зазначили поступове підвищення експресії мікроРНК з прогресією стадії РЯ. Ще одне дослідження не виявило статистично значущого підвищення експресії miR-200c на стадіях I–II, але зареєструвало підвищену експресію цієї мікроРНК на пізніх стадіях [237]. Експресія miR-200c у сироватці була вищою у разі формування вторинних вогнищ у лімфатичних вузлах [237,260], хоча Wang et al [264] цього не підтвердили. Рівень miR-200c у сироватці також зростає із прогресуванням віддалених метастазів [261,264]. Дані Gao et al [230], навпаки, показують, що рівень цієї мікроРНК у сироватці був нижчим у пацієнтів із метастазами порівняно з локальнопоширеним РЯ. Серед цих досліджень лише одне повідомляє про кореляцію між рівнем miR-200c у сироватці та CA-125 [237]. Інші дослідники не виявили такої кореляції ані у сироватці [234,264], ані у тканинах [236]. Експресія miR-200c у сироватці залежить від гістологічного

підтипу епітеліального РЯ (серозний, муцинозний, ендометріоїдний, світлоклітинний, недиференційований) [230]. Усі ці результати свідчать про потенційну роль miR-200c як маркеру для «рідкої біопсії». Розбіжності у дослідженнях, імовірно, спричинені відмінностями у підходах до аналізу матеріалу (наприклад, використанням цільної сироватки або ізольованих екзосом) та гетерогенністю вікових груп.

Експресія miR-200b також спостерігається у сироватці крові. Її рівень вищий у жінок із доброякісними пухлинами яєчників порівняно з тканиною здорових яєчників, але нижчий порівняно з тканинами пухлин у пацієнтів із РЯ [260]. Інше дослідження представило протилежні результати – експресія miR-200b була вищою у пацієнтів із РЯ [234]. Рівень miR-200b не залежить від стадії прогресії РЯ [260]. Однак інше дослідження свідчить про потенційну канцерогенну роль miR-200b через його підвищення на стадіях III–IV РЯ і у жінок із ураженими лімфатичними вузлами [237]. Ці результати підтверджуються у дослідженні Zuber et al [261], хоча значного підвищення рівня miR-200b у сироватці пацієнтів із РЯ у міру прогресування захворювання виявлено не було. Це дослідження, однак, не змогло виявити значного підвищення рівня експресії miR-200b у сироватці пацієнтів з РЯ у міру прогресування захворювання. Також не було знайдено кореляції між рівнем експресії miR-200b і рівнем СА-125, віком, ступенем диференціації пухлини, розміром пухлини, менопаузальним статусом, концентрацією гемоглобіну чи відсутністю вагітності [261]. Інше дослідження заперечує наявність кореляції між рівнями miR-200b у сироватці крові та ступенем диференціації пухлини [260], хоча кореляція з рівнем СА-125 була встановлена [237]. Знову ж таки, розбіжності в цих звітах, ймовірно, пояснюються відмінностями у вимірюванні miR-200b – у екзосомах проти всієї сироватки.

Як miR-141, так і miR-429 у сироватці діють як карциногенні miRNA. Zheng et al [265] зазначили, що miR-141 має знижену експресію у плазмі. Інше

дослідження повідомило, що рівень miR-141 у сироватці: 1) підвищується в міру прогресування раку; 2) є вищим під час метастатичного поширення; 3) корелює з нижчою загальною виживаністю [230]. На відміну від рівнів miR-429 у сироватці здорових жінок, у пацієнтів із РЯ вони зростають разом із прогресуванням хвороби та стадією захворювання. Рівень цієї мікроРНК у сироватці крові статистично значимо корелює з рівнем СА-125 у крові. Низька експресія miR-429 була пов'язана з позитивним впливом на загальну виживаність, а також із підвищеною міграцією та інвазією клітин [266]. На противагу цьому, Meng et al [237] не виявили екзосом miR-429 або -141 у сироватці крові. Автори вимірювали експресію мікроРНК в екзосомах, тоді як інші дослідницькі групи використовували всю сироватку.

Отже, позаклітинна кількість членів родини miR-200 може свідчити про сприятливий прогноз для пацієнта (Таблиця 7). Більшість доказів було отримано із зразків сироватки крові, що підтверджує надійність цього підходу для аналізу. Проте необхідні додаткові дослідження щодо рівня мікроРНК у всій сироватці та екзосомах.

| мікроРНК | Клінічна значимість | Посилання |
|----------|---|---------------|
| miR-200a | - Підвищена експресія в сироватці не корелює із загальною або безрецидивною виживаністю, рівнями СА-125, розмірами пухлини та неoad'ювантним лікуванням | Kan CW et al. |
| | - Експресія при РЯ > доброякісних пухлин. | Meng X et al. |
| | Експресія не залежить від стадії РЯ. Відсутня кореляція з градацією РЯ | Meng X et al. |
| | - Експресія не залежить від стадії РЯ. Експресія у здорових жінок > доброякісних пухлин яєчників. | Zuberi et al. |
| | Відсутня кореляція з ураженням лімфовузлів | |

| | | |
|----------|--|-----------------|
| | - Експресія зростає залежно від стадії РЯ та метастатичного поширення. Не спостерігалось кореляції з ураженням лімфовузлів, градацією, рівнем СА-125 чи розміром пухлини | |
| miR-200c | - Підвищена експресія не корелює із загальною або безрецидивною виживаністю, рівнями СА-125, розмірами пухлини та неoad'ювантним лікуванням | Kan CW et al. |
| | - Підвищена експресія корелює зі скороченням загальної та безрецидивної виживаності, ураженням лімфовузлів та рівнями СА-125. | Meng X et al. |
| | Підвищена експресія спостерігалася на стадіях III-IV | Meng X et al. |
| | - Експресія на стадіях I-II < III-IV і корелює з ураженням лімфовузлів | Zuberi M et al. |
| | - Експресія стадій I < II < III-IV і корелює з ураженням лімфовузлів, метастатичним поширенням | Wang W et al. |
| | - Експресія стадій I-II > III-IV, зростає при метастатичному поширенні. Не корелює з ураженням лімфовузлів, рівнем СА-125, а експресія в сироватці не збігається з експресією в тканинах | Gao YC et al. |
| | - Підвищена експресія подовжує загальну виживаність. Експресія стадій I-II > III-IV, зменшується при метастатичному поширенні | |
| miR-200b | - Скорочує загальну виживаність, корелює з ураженням лімфовузлів та рівнем СА-125. | Meng X et al. |
| | Експресія зростає на стадіях III-IV | Meng X et al. |

| | | |
|------------|--|--------------------|
| | - Експресія при РЯ вища, ніж у здорових контрольних груп | Kan CW et al. |
| | - Експресія: здорові < доброякісні пухлини < РЯ і корелює з СА-125. Відсутня кореляція з прогресуванням РЯ чи градацією | Zuberi M et al. |
| | - ідсутня кореляція з градацією пухлини, рівнем СА-125, прогресуванням РЯ, віком, концентрацією Нв у крові, відсутністю вагітностей і статусом менопаузи | |
| miR-141 | - Експресія зростає з прогресуванням хвороби при метастатичному поширенні та негативно впливає на загальну виживаність | Gao YC et al. |
| | - Екзосоми не виявлені в сироватці | Meng X et al. |
| | - Експресія в сироватці знижена | Zheng H et al. |
| miR-429 | - Експресія зростає з прогресуванням хвороби, корелює з СА-125 і негативно впливає на загальну виживаність | Meng X et al. |
| | - Екзосоми не виявлені в сироватці | Meng X et al. |
| Let-7i | - Експресія в сироватці знижена | Langhe R et al. |
| Let-7a | - Гіпоекспресія в плазмі | Zheng H et al. |
| | - Збільшена кількість екзосом | Kobayashi M et al. |
| Let-7d,e,f | - Гіпоекспресія в сироватці крові. Для let-7f гіпоекспресія корелює зі скороченням виживаності | Zheng H et al. |

| | | |
|--------|---|--------------------|
| | без рецидивів; немає залежності від загальної виживаності | |
| | - Let-7f-2 перебуває у гіперекспресивному стані | |
| Let-7b | - Гіпоекспресія в крові | Chung YW et al. |

Таблиця 1.7 **Експресія мікроРНК у крові та її клінічна значимість**

1.8.4.2 Родина Let-7

Дані щодо експресії мікроРНК родини let-7 у сироватці крові пацієнток із РЯ є менш дослідженими порівняно з родиною miR-200. Однак усі наявні результати вказують на те, що експресія let-7 у крові є позитивним прогностичним фактором для пацієнток із РЯ. Експресія let-7i була виявлена в сироватці, але даних з цього питання недостатньо. У своєму дослідженні Langhe et al [245] виявили, що let-7i є зниженої експресії у крові у пацієнток із РЯ.

Експресію let-7a в плазмі крові також було зафіксовано, але вона не була повністю описана. Zheng et al [265] вказали на знижену експресію мікроРНК у плазмі. Натомість Kobayashi et al [183] виявили велику кількість екзосом із високим вмістом мікроРНК родини let-7, зокрема let-7a, b, c, d, e, f у дослідженні *in vitro*.

Кореляції між експресією let-7f у плазмі та загальною виживаністю не було виявлено, проте низький рівень мікроРНК корелював зі скороченою виживаністю без рецидиву [265]. Знижена експресія let-7b, d, i, c, e, f корелює з несприятливим прогнозом [242]. Низька експресія let-7e, висока експресія Rad51 і BRCA1 асоціюються з низькою ймовірністю рецидиву та загальною виживаністю [258].

Zheng et al [265] порівняли експресію miRNA у плазмі та тканині пухлини жінок із РЯ із контрольною групою здорової тканини яєчників. Було виявлено відмінності у 30 плазмових мікроРНК, серед яких гіпоекспресовані: let-7a, d, e, f, miR-98; і гіперекспресовані: let-7f-2. Ці дані підтверджені іншим дослідженням, у якому let-7b у сироватці був виявлений у гіпоекспресованому стані у пацієнтів із РЯ [267].

Наявні дані свідчать, що родина let-7 має переважно онкосупресивні властивості – експресія let-7 у периферичній крові була визначена як позитивний прогностичний фактор для пацієнтів із ОС (Таблиця 1.7).

Незважаючи на суперечливі результати експериментів щодо ролі родин мікроРНК-200 та let-7 у розвитку РЯ, їхній потенційний внесок як маркерів для ранньої діагностики РЯ та оцінки його поширеності є обнадійливим. Родина мікроРНК-200 представлена як регулятор епітеліально-мезенхімального переходу та його зворотного процесу – мезенхімально-епітеліального переходу через вплив на експресію ZEB1/ZEB2. Порушення цього процесу може призвести до втрати клітинної пластичності та сприяти метастазуванню раку. Таким чином, раннє виявлення дисрегуляції родини мікроРНК-200 у крові за допомогою «рідкої біопсії» може бути корисним для своєчасної діагностики РЯ. Однак вплив регуляції родини мікроРНК-200 на механізм ЕМП-МЕР у контексті лікування РЯ потребує подальших досліджень.

Родина мікроРНК let-7 у контексті РЯ вивчена недостатньо. Наявні дані свідчать про її переважно онкосупресивні властивості. Знижена експресія let-7e, f, d, c, a-e, i, a, b у зразках пухлини та знижена експресія let-7f, d, a-e у клітинних лініях, а також уповільнене зростання клітин та зменшення залучення лімфатичних вузлів підтверджують онкосупресивну роль цієї родини мікроРНК. Усі наявні дані підтримують онкосупресивну роль родини – експресія let-7 у периферичній крові була визначена як позитивний прогностичний фактор для пацієнтів із РЯ.

Для обох родин, мікроРНК-200 та let-7, дані щодо їхньої ролі у канцерогенезі РЯ виявилися різними залежно від оцінки експресії у крові та пухлинній тканині. Наприклад, експресія miR-200a та let-7a у пухлинній тканині здебільшого вказує на їхні канцерогенні властивості. Однак їхня експресія у сироватці крові асоційована з кращим прогнозом, що може свідчити про онкосупресивний вплив. Розбіжності в ролі родин мікроРНК-200 та let-7 можуть бути зумовлені різними підходами до планування досліджень. Наукові групи використовували різні методи зберігання біоматеріалу, що є вирішальним фактором. Наприклад, фіксація у формаліні може впливати на рівень мікроРНК у пухлинній тканині. Аналогічно, вимірювання лише фракції екзосом може не відображати весь спектр позаклітинної мікроРНК. Крім того, поки що не встановлено абсолютних діапазонів експресії родин мікроРНК-200 та let-7, що ускладнює стандартизовану оцінку експресії мікроРНК та її впровадження у клінічну практику.

МікроРНК родин 200 та let-7 є перспективними для подальшого використання у клінічній практиці, але механізми їхньої участі у терапевтичній відповіді на рак потребують додаткових досліджень. Процедура екстракції та оцінки мікроРНК повинна бути стандартизована для забезпечення надійних даних для клінічного використання. Майбутні дослідження у цій галузі, враховуючи ці рекомендації, можуть усунути або пояснити існуючі суперечності щодо ролі цих мікроРНК у процесах канцерогенезу, прогнозуванні та впливі на чутливість до хіміотерапії у пацієнтів із РЯ.

Виходячи з опрацьованої літератури, акцент у нашій роботі був зроблений на мікроРНК родини 200, зокрема на miR-200a та miR-200c (Таблиця 1.1-1.4, 1.7), як таких, що найчастіше зустрічались у дослідженнях та клінічна роль яких висвітлювалась доволі суперечливо. Проте, у той чи інший

спосіб, їхня експресія мала предиктивне значення, оскільки беззаперечно впливала на чутливість пухлинних клітин до хіміотерапії РЯ І лінії – таксанів та препаратів платини.

РОЗДІЛ 2

КЛІНІЧНИЙ МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Загальна характеристика та дизайн дослідження

Дослідження має ретроспективно-проспективний дизайн, є моноцентровим, однофакторним клініко-експериментальним аналізом із молекулярно-біологічною верифікацією біомаркерів. Дослідження проводилось на кафедрі онкології і радіології ФПДО Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького на базі КЗ ЛОР Львівського державного онкологічного регіонального лікувально-діагностичного центру (клінічна база кафедри) протягом 2019-2023 років.

У дослідження було прийнято 100 пацієток з РЯ, у яких було забрано зразки плазми крові та зразки пухлини. З них 15 були виключені через невідповідність критеріям – наявність вторинної злоякісної неоплазії у анамнезі, злоякісна пухлина яєчників не серозного походження, втрата до спостереження. Середній вік становив 59,7 років (діапазон 32,1 – 78,3 роки).

Дизайн дослідження затверджено комісією з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького на засіданні у лютому 2020 року.

Встановлення діагнозу проводилось з використанням лабораторних, інструментальних та гістологічних методів за стандартами діагностики і лікування онкологічних хворих, затверджених наказами МОЗ України № 396 від 30.06.2015 та № 236 від 02.04.2014 та згідно рекомендацій Європейської асоціації медичної онкології (European Society for Medical Oncology, 2020), National Comprehensive Cancer Network, версія 2.2020 та міжнародної класифікації хвороб X перегляду (C56 – злоякісне новоутворення яєчника). Стадіювання РЯ проводилось за Міжнародною класифікацією TNM 7-го видання (2009 р.).

З 76 пацієток, у яких було забрано зразки крові, 15 були виключені через невідповідність критеріям – наявність вторинної неоплазії в анамнезі (n=6), неоплазія черевної порожнини не відповідала гістологічно РЯ (n=9). Пацієнтки були стратифіковані за: чутливістю до хіміотерапії – чутливі (час рецидиву >6 місяців від моменту завершення лікування, n=37), нечутливі (час рецидиву <6 місяців від моменту початку лікування, n=17); високий рівень експресії мікроРНК було визначено як ≥ 1 для miR-200a (n=29) та miR-200c (n=35) та низький <1 для miR-200a (n=32) та miR-200c (n=26); BRCA1-статусом (wildtype (WT) – мутація відсутня та мутований, що становило 5 та 19 випадків відповідно); рівнем експресії TNF плазмі крові, де високий рівень експресії оцінено як ≥ 2 (n=50) та низький <2 (n=11) (Рис.2.1).

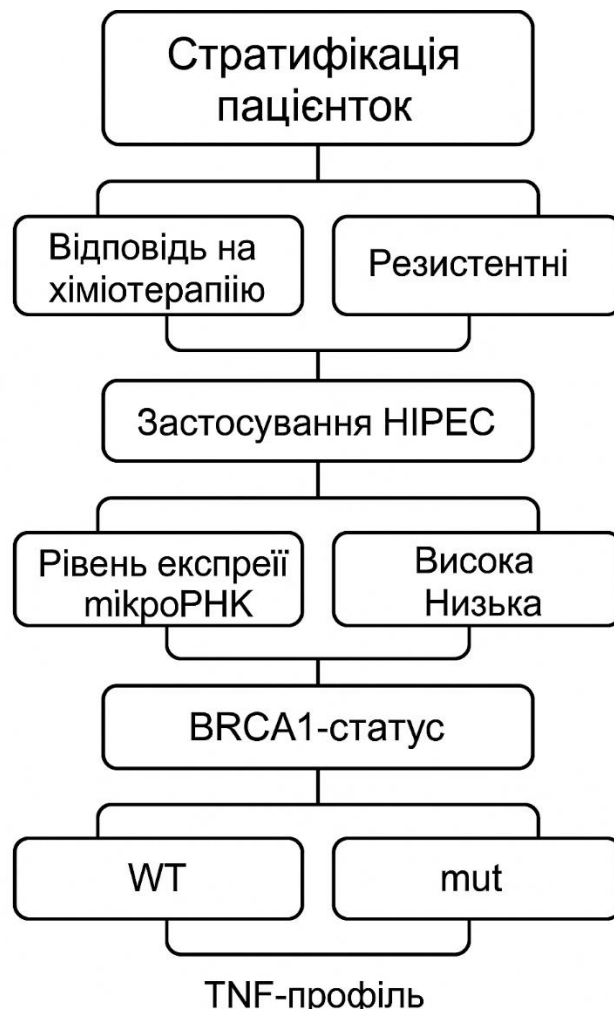


Рис. 2.1 Графічне зображення дизайну дослідження

За гістологічним підтипом переважав серозний high-grade РЯ (n= 43) – 71%, інші підтипи становили незначну частину – стромальний (n=4) – 7%, світлоклітинний (n=3) – 5%, муцинозний (n=2) і серозний low-grade (n=2) – по 3 %. Група доброякісних пухлин яєчника використовувалась у якості контролю та становила 7 випадків (Рис. 2.2).

Ініціальне лікування лікування у пацієток включало екстирпацію матки з додатками, оментектомію, резекцію пухлинних мас. В якості ад'ювантного лікування пацієнтки отримали I лінію ХТ за схемою РС (паклітаксел + карбоплатин).

У якості спостереження використовувався контроль рівнів онкомаркерів крові СА-125 та НЕ-4, сонографія та комп'ютерна томографія з внутрішньовенним контрастуванням кожні 3 місяці у 1-й рік спостереження, кожні 6 місяців у 2-й рік спостереження та 1 раз на рік кожного року у подальшому. Рецидиви захворювання підтверджувались клінічно та комбінацією описаних методів.

Чутливими до проведеної хіміотерапії вважались пацієнтки, у кого настання рецидиву спостерігалось понад 6 місяців з моменту лікування (n=37). Нечутливими до проведеної ХТ вважались ті, у кого настання рецидиву відбулось раніше, ніж за 6 місяців від завершення лікування (n=17).



Рис. 2.2 Патогістологічний розподіл пухлин яєчників

2.2 Методи дослідження

2.2.1 Клініко-лабораторні методи

Первинною документацією для зберігання даних про курс лікування пацієнтки була «Медична карта стаціонарного хворого».

Антропометричні дані визначались за допомогою повірених ваг та ростоміру з точністю до 0,1 кг та 0,1 см відповідно. Площа тіла визначалась згідно формули Дюбуа.

До лабораторного обстеження пацієнток входили: загальний аналіз крові; біохімічне дослідження крові із вимірюванням рівнів загального білка, сечовини, креатиніну, білірубіну, глюкози та активності печінкових ферментів; серологічні тести на сифіліс (RW), HBsAg; а також визначення резус-фактора і групи крові. Додатково проводився загальний аналіз сечі. За наявності клінічних показань визначали концентрації пухлинних маркерів СА-125 та HE4 у сироватці крові.

2.2.2 Інструментальні методи обстеження

Усім пацієнткам, включеним до дослідження, було проведено оглядову рентгенографію органів грудної клітки за допомогою апарата UV.56 відповідно до стандартного протоколу. Електрокардіографічне обстеження здійснювали у 12 відведеннях (стандартних, підсилених від кінцівок та грудних V1–V6) із застосуванням електрокардіографа ECG 1201. Аналізували параметри серцевого ритму, частоту серцевих скорочень, наявність аритмій, ознаки порушень провідності, змін реполяризаційної фази, тривалість інтервалу QT та коригований показник QTc за формулою Bazett, а також потенційні ознаки гіпертрофії камер серця.

Ультразвукове дослідження проводили на апараті експертного класу (Toshiba Aplio 500). Воно включало оцінку локалізації пухлинного процесу в черевній порожнині, характер взаємодії з суміжними структурами, стан регіонарних лімфовузлів, наявність метастатичних уражень та вільної рідини (асцити). У динаміці відстежували зміни розмірів метастазів і характер перебігу асцити або його зникнення. Для інтравагінального обстеження використовували як механічні, так і електронні вагінальні датчики; за потреби обстеження доповнювали режимом кольорового доплерівського дослідження та 3D-реконструкцією виявлених утворень.

Рентгенологічну діагностику проводили згідно з класичним протоколом обстеження органів грудної клітки. За клінічної потреби пацієнткам виконували комп'ютерну томографію (КТ), магнітно-резонансну томографію (МРТ) та ангіографію.

КТ органів черевної порожнини та малого таза виконували на спіральному томографі “Somatom Emotion” (Siemens, Німеччина), застосовуючи аксіальне сканування. Параметри дослідження включали: напруга — 130 кВ, сила струму — 110 мА·с, товщина зрізу — 5 мм, час

обертання трубки — 1 сек. Для покращення візуалізації використовували внутрішньовенне введення контрасту. Для внутрішньовенного підсилення застосовували водорозчинні низькоосмолярні контрастні речовини (йогексол, йопромід) у дозі 1,4 мл/кг маси тіла. Для заповнення шлунково-кишкового тракту застосовували водорозчинні високоосмолярні (урографін, тріомбрас) або негативні контрасти (вода). При виявленні карциноматозу очеревини оцінювали розміри та анатомічну локалізацію перитонеальних імплантів.

Дослідження верхніх відділів травного тракту проводили методом езофагогастродуоденоскопії. Огляд товстої кишки здійснювався з використанням гнучкого колоноскопа з фіброоптикою. У межах ендоскопії виконували прицільну біопсію пухлини та підозрілих ділянок слизової з метою гістологічної верифікації й визначення проростання пухлини яєчника у стінку кишки.

2.2.3 Морфологічне обстеження пухлин яєчника

Усім пацієнткам перед початком спеціалізованого лікування було виконано морфологічне підтвердження раку яєчника шляхом гістологічного аналізу. Верифікація проводилася на базі відділення патологічної анатомії Львівського державного онкологічного регіонального лікувально-діагностичного центру.

Патогістологічна обробка матеріалу здійснювалася відповідно до загальноприйнятих протоколів: фіксацію виконували у 10% нейтральному формаліні, після чого проводили зневоднення в спиртах зростаючої концентрації та заливку у парафінові блоки. З парафінових блоків виготовляли серійні зрізи, які фарбували гематоксиліном та еозином. Морфологічне оцінювання виконували за допомогою світлової мікроскопії.

Для уточнення гістогенезу пухлинного процесу та характеристики молекулярного профілю проводилося імуногістохімічне дослідження з використанням комерційних моноклональних та поліклональних антитіл.

Залежно від клінічного завдання аналізували експресію таких маркерів: WT1, PAX8, CK7, p53, Ki-67, рецептори стероїдних гормонів (ER, PR), а також інші індикатори проліферації, апоптозу, ангіогенезу чи пухлинного мікрооточення. Оцінка експресії проводилася за напівкількісною шкалою (відсоток позитивних клітин та інтенсивність забарвлення), а в разі необхідності — з використанням H-score.

2.2.4 Виділення та аналіз мікроРНК

Забір крові проводили в пробірки ЕДТА (етилендіамінтетраоцтову кислоту) в якості антикоагулянта. З плазми крові було виділено мікроРНК, її експресія кількісно вимірювалася в двокроковій полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР) у реальному часі, з раніше підібраними праймерами до мікро РНК.

Виділення проводили за допомогою набору для виділення нуклеїнових кислот (AmplifySens). У пробірки на 2 мл вносили 100 мкл плазми, додавали 500 мкл лізуючого розчину разом з магнітними частинками. Проби інкубувати 10 хвилин при 56°C в термошейкері. До суміші додавали 600 мкл буферу для преципітації; інкубували 3-5 хв при кімнатній температурі та осаджували центрифугуванням 5 хв при 13000 об/хв. Переносили пробірки в магнітний штатив та видаляли надосадову рідину. До осаду додавали 500 мкл розчину відмивки №1, перемішували та інкубували 3-5 хв при кімнатній температурі. Суміш осаджували центрифугуванням 5 хв при 13000 об/хв; переносили в магнітний штатив та видаляли надосадову рідину. Додавали 300 мкл розчину для відмивки №2; перемішували та інкубували 3-5 хв при кімнатній температурі. Суміш осаджували центрифугуванням 5 хв при 13000 об/хв та висушити осад протягом 2-3 хвилин. Додавали 20 мкл елюючого розчину, ресуспендувати та інкубувати 10 хв при 56°C. Розчин осадили центрифугуванням протягом 1 хв при 13000 об/хв. Визначали концентрацію виділеної РНК за допомогою спектрофотометра DS-11, «DeNovix», США.

Першим етапом була ПЛР зі зворотною транскрипцією, а далі використовувалася ПЛР у режимі реального часу в приладі для проведення ампліфікації в режимі реального часу. РНК з кожного зразка була зворотно транскрибована за допомогою TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit з використанням 96-лункового термоциклера GeneAmp PCR 9700 96 (Applied biosystems). Готували суміш для проведення зворотної транскрипції: змішували 0,15 мкл нуклеозидтрифосфату (dNTP), 1 мкл зворотної траскриптази (50 Од/мкл), 1,5 мкл 10 кратного буфера, 0,19 мкл інгібіторів рнказ (20 Од/мкл), 4,16 мкл вільної від РНК води. Окремо змішували 3 мкл спеціального праймеру мікроРНК та 5 мкл зразка виділеної РНК та інкубували 5 хв при 85°C, 5 хв при 60°C. Після чого пробірки із зразками змішували з приготованою раніше реакційною сумішшю та проводили реакцію зворотної транскрипції з наступними температурно-часовими параметрами: 30 хв при 16°C, 30 хв при 42°C, 5 хв при 85°C.

Відносну експресію miR-200a та miR-200c аналізували за допомогою полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (RT-PCR). Використовували наступні послідовності праймерів мікроРНК: miR-200a (F: 5' GCCGTСТААСТАСТGTCTGGTA, R: 5' ССТАСГССАСААТТААСААГСС) , miR-200c (F: 5'-ССААСГТААТАСТГССГГГТ-3', R: 5' СТГСТГГСГААТТАГТАГАССА), miR-U6 (F: 5' GСТТСГГСAGCАСАТАТАСТААААТ, R: 5' СГСТТСАСГААТТТГСГТГТСАТ).

Реакцію RT-PCR готували для трьох різних пар праймерів, кожна містила 6 мкл деіонізованої води, 1,5 мкл 5xHOT FIREPol EvaGreen Mix Plus Solis, BioDie), 0,3 мкм праймерів і 1,33 мкл отриманої cDNA. Як негативний контроль використовували деіонізовану воду.

ПЛР у реальному часі (RT-PCR) проводили з такими параметрами: активація полімерази (50°C, 2 хв), початкова денатурація (95°C - 10 хв) і 40 циклів з наступними параметрами: 15 сек при 95°C, 15 сек при 60°C, 15 сек при 72°C). Детекцію флуоресценсії проводили при 60°C.

RT-PCR проводили на CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System, BIO-RAD, США. Проаналізовано Ct miR-200a, miR-200c, miR-U6 кожного зразка. Аналіз відносної експресії проводили за допомогою $2(-\Delta\Delta C(T))$ методу: значення Ct, отримані з різних експериментальних зразків РНК, безпосередньо нормалізували до гена microRNA U6, а потім порівнювали [268].

Проведено виділення 54 зразків мікроРНК із плазми пацієток з РЯ та 7 зразків плазми жінок з контрольної групи, зворотну транскрипцію та визначення рівня експресії miR-200a, miR-200c, miR-U6 методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (RT-PCR).

2.2.5 Визначення статусу *BRCA1*

Зразки тканин. Для дослідження використовували формалін-фіксовані, залиті в парафін (FFPE) блоки пухлинних зразків пацієток із раком яєчників. Вибірка включала як BRCA-мутаційні, так і BRCA-немутаційні випадки, підтверджені молекулярно-генетичним тестуванням.

Підготовка зрізів. Використовуючи мікротом, з FFPE блоків отримували серійні зрізи товщиною 4 мкм. Зрізи наносили на позитивно заряджені предметні скельця (наприклад, Superfrost Plus). Для знепарафінування та регідратації зрізи обробляли серією ксилолу та градуйованих етанолових розчинів.

Антигенне демаскування. Оскільки формалінова фіксація може викликати зшивання білків, проводили демаскування епітопів: Буфер: цитратний буфер (рН 6,0) або EDTA (рН 8,0). Метод: Нагрівання в мікрохвильовій печі (750 Вт, 10 хв) або автоклавування (120°C, 20 хв). Охолодження до кімнатної температури, промивання PBS.

Імуногістохімічне фарбування. Блокування ендогенної пероксидазної активності: 3% H₂O₂ у метанолі, 10 хв. Неспецифічне блокування: 5% BSA або 10% нормальної козячої сироватки (30 хв). Інкубація з первинними антитілами [BRCA1/1398] (0,1 мг/мл): Розведення: 1:100–1:200 у PBS Температура: 4°C,

на ніч. Промивання PBS (3×5 хв). Інкубація з вторинними біотинілюваними антитілами (анти-мишачими) (30 хв, кімнатна температура). Візуалізація за допомогою HRP-кон'югованої стрептавідин-пероксидазної системи (DAВ-хромогену, 5–10 хв). Контрфарбування гематоксиліном, дегідратація, заключне монтування у канадський бальзам.

Оцінка результатів. Візуальна оцінка під світловим мікроскопом (400×). Критерії оцінки: *BRCA1*-позитивні клітини: ядерне або цитоплазматичне забарвлення. *BRCA1*-негативні клітини (наявність мутації): відсутність фарбування. Зразки вважалися *BRCA1*-негативними за відсутності ядерного забарвлення у понад 10% пухлинних клітин. Відповідність експресії *BRCA1* молекулярно-генетичному статусу (*BRCA1* wild-type vs. мутантний *BRCA1*).

2.2.6 Визначення рівня TNF у плазмі крові

Для визначення концентрації TNF у плазмі крові як базовий взято протокол [269], у якому використовуються чутливі до TNF мишачі фібробласти лінії L929.

Лінія L929 культивувалась в культуральному середовищі RPMI-1640, що містило 20 мМ HEPES і 2 г/л NaHCO₃, доповненому 10% термоінактивованою бичачою сироваткою і 50 мкг/мл гентаміцину. Інкубація проводилась в CO₂-інкубаторі при 37°C і 5% CO₂. Клітини пересівали кожні 2-3 дні, проводили трипсинізацію і подальше розведення у співвідношенні 1:3. У всіх експериментах використовували клітини у фазі експоненціального росту.

Визначення TNF включає внесення до кожної лунки 96-лункового планшета по 100 мкл суспензії фібробластів із розрахунку 30000 клітин на лунку з подальшою інкубацією клітин у CO₂-інкубаторі через ніч для утворення моношару. Після відбирання культурального середовища у кожен лунку додають по 50 мкл RPMI-1640, проводячи серію послідовних розведень і подальше додавання по 50 мкл розчину актиноміцину D до кінцевої концентрації 8 мкг/мл. Інкубація планшети триває 18 годин в CO₂-інкубаторі.

На етапі оцінювання життєздатності клітин L929, яке проводили за допомогою МТТ-тесту [270], що є модифікацією до базового протоколу. Для цього у кожен лунку планшету після промивання 0,9% фізіологічним розчином вносили по 20 мкл 5 мг/мл розчину МТТ (0,1 мг/лунку) та інкубували протягом 4 годин. Надосадову рідину відбирали, фіолетові кристали формагану в кожній лунці розчиняли в 200 мкл диметилсульфоксиду і проводили визначення оптичної густини при 540 нм на мікропланшетному ридері (ВіоТек, США).

Лунки, у яких значення екстинції при 490 нм, найближчі до 50% від середнього арифметичного значення максимального контролю, представляють 50% лізису клітин L929 під впливом TNF. Значення максимальної екстинції (максимальний контроль) контролю фіксується у лунках лунках зі всіма доданими компонентами, окрім плазми. Розрахунок концентрацій TNF в МО/мл проводиться за побудованою калібрувальною кривою, у якій використовувались різні концентрації рекомбінатного TNF. Цей білок індукує цитотоксичний ефект на клітини L9292 у присутності метаболічного інгібітора актиноміцину D.

Для кожного аналізованого зразка плазми необхідно забезпечити проведення достатньої кількості паралельних проб (не менше 3).

2.3 Методи лікування

Лікувальна тактика для пацієнок передбачала проведення циторедуктивної операції, після якої здійснювалася внутрішньочеревна гіпертермічна хіміоперфузія. Перш ніж переходити до хірургічного втручання, оцінювали показання та протипоказання для його проведення.

До критеріїв включення в оперативне лікування з виконанням перітонектомії відносили:

- вік ≤ 70 років
- морфологічно підтверджений рецидив раку яєчника

- наявність перитонеального карциноматозу з/або асцити
- позитивну цитологію асцитичної рідини
- стабільну функцію життєво важливих органів (серця, легень, нирок),
- нормальні лабораторні показники крові та сечі
- надану письмову згоду пацієнтки.

Протипоказанням до хірургічного втручання були:

- тяжка супутня патологія, що значно підвищує ризики в післяопераційному періоді
- множинні гепатичні метастази чи віддалене метастазування
- нерезектабельність рецидивного процесу, а також виражена дисемінація, що унеможлиблює відновлення функції шлунково-кишкового тракту

Хірургічне втручання розпочиналось із підготовки пацієнтки, включаючи профілактику тромбозів нижніх кінцівок. Обсяг лапаротомії залежав від попередньо встановленої наявності перитонеального карциноматозу: при доведеному перитонеальному карциноматозі — серединна лапаротомія до лобка; при неуточненому — первинна верхньосерединна лапаротомія з подальшою ревізією. Обсяг операції визначали за класифікацією Sugarbaker (CC0–CC3) залежно від розміру залишкової пухлини.

Основні етапи перитонектомії включали: видалення великого та малого чепця (з/без спленектомії та холецистектомії), ліво- та правобічну верхньоквадрантну перитонектомію (включаючи мобілізацію ділянок печінки та резекцію ураженої очеревини), тазову перитонектомію (з можливими резекціями сигмоподібної або правої ободової кишки). Всі етапи виконували з

використанням електрохірургічного обладнання для досягнення гемостазу та мінімізації пухлинної дисемінації.

У випадку резиктабельності процесу (можливості досягнення СС0-СС1) після завершення хірургічного етапу частині пацієток проводилась внутрішньочеревна інтраопераційна гіпертермічна хіміоперфузія (НІРЕС) у закритій системі під загальним наркозом. Для перфузії встановлювали два катетери: один у ділянці малого тазу (ввідний), інший — у піддіафрагмальному просторі (вивідний), а також термодатчики для контролю температури в черевній порожнині, стравоході та зовнішньому слуховому проході. Хіміоперфузію здійснювали зі швидкістю 500 мл/хв протягом 90 хвилин.

Препаратами вибору були цисплатин (75 мг/м^2) та доксорубіцин (10 мг/м^2), які вводили у двох етапах ($2/3$ на початку процедури, $1/3$ — через 60 хв). Температура перфузату підтримувалась у межах $41\text{--}44^\circ\text{C}$. Для хіміоперфузії використовували ізотонічний розчин натрію хлориду, Рінгера або колоїдні розчини. Важливим етапом була терморегуляція пацієтки для запобігання системній гіпертермії.

Після завершення НІРЕС проводили повну евакуацію перфузату, видалення катетерів та встановлення дренажів. Дренажі з черевної порожнини видаляли після припинення їх функціонування.

Пацієтки відбирались за такими критеріями:

- вік ≤ 70 років
- Karnofsky > 80
- ECOG < 2
- морфологічно верифікований рецидив
- перитонеальний карциноматоз

- позитивна цитологія асцитичної рідини без дисемінатів
- відсутність екстраабдомінальних метастазів і тяжкої супутньої патології,
- нормальні лабораторні показники
- інформована згода на лікування

Протипоказання до НІРЕС включали:

- нерезектабельний процес
- серцеву, легеневу або ниркову недостатність
- патології ЦНС (судинного або неопластичного характеру)

Технічне забезпечення НІРЕС включало: термостат ТЖ-ТБ-01/12Ц LB 200, дві перистальтичні помпи УАГ-01, теплообмінник Biotherm Medtronic, температурні датчики Microlife MT 3001, катетери Gambro Medical та резервуари Baxter Healthcare.

Розрахунок крововтрати проводився за співвідношенням гематокриту перфузату до периферичної крові з урахуванням об'єму перфузату. Втрату білка визначали шляхом множення концентрації загального білка в перфузаті на об'єм перфузату.

Методика захищена патентом України на корисну модель №53677 (2010). Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 11.10.2010. Автори: У.М. Волошинська (Дутчак), Р.Р. Ярема, Т.Г. Фецич.

Системна хіміотерапія проводилась згідно рекомендацій затверджених наказами МОЗ України № 396 від 30.06.2015 та № 236 від 02.04.2014 та згідно рекомендацій Європейської асоціації медичної онкології (European Society for Medical Oncology, 2020), National Comprehensive Cancer Network, версія

2.2020. Першою лінією хіміотерапії був режим РС (паклітаксел + карбоплатин):

- Паклітаксел — 175 мг/м² внутрішньовенно протягом 3 годин у день 1
- Карбоплатин — АUC 5–6 внутрішньовенно у день 1
- Цикл повторюється кожні 21 день
- Тривалість лікування: 6 циклів (можливо більше у пацієнок з резидуальним ураженням або з високим ризиком рецидиву)

Розразунок доз паклітакселу проводився відповідно до розрахованої площі тіла пацієнтки. Доза карбоплатину визначалась згідно формули Кальверта.

У випадках, коли первинна циторедукція була технічно неможливою або надто ризикованою (наприклад, ECOG > 2, супутні захворювання, поширена дисемінація), застосовувалась неoad'ювантна хіміотерапія за тією ж схемою: 3 цикли → оцінка відповіді → інтервальна циторедукція → ще 3 цикли.

2.4 Статистичний обрахунок

Цифрові показники перевірено на нормальність розподілу за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Оскільки був встановлений негаусівський тип розподілу, результати наведені у вигляді медіани та кватилей - Me (25%; 75%). Для виявлення достовірності різниці поміж двома групами використовували U-критерій Манна-Уїтні. Для виявлення різниці між трьома та більше груп використовували H-критерій Краскела-Уолліса із подальшим апостеріорним тестом Дана для попарного порівняння. Різниця вибірок вважалась достовірною при $p < 0,05$.

Для прогностичної оцінки факторів використовувалась побудова логістичної регресії та ROC- кривих. Кореляційний зв'язок досліджували із використанням R-Спірмена. Аналіз виживаності проведено з застосуванням методу Каплан-Маєра. Для оцінки асоціацій між потенційними факторами

ризиків та часом до події застосовано регресію пропорційних ризиків Кокса; результати подано як HR з 95% довірчими інтервалами.

Всі статистичні обрахунки проводилися із використанням програмного забезпечення Statistica v.14.0.0.15 та EZR v. 4.3.1.

2.5 Пацієнти

Критеріями включення були жінки, що хворіли на РЯ та не мали іншого метакронного чи синхронного злоякісного процесу. У якості контрольної групи були жінки з доброякісними новоутворами яєчників. Дослідження проходило на базі Львівського онкологічного регіонального лікувально-діагностичного центру. Дослідження складалось з 2 частин: проспективної та ретроспективної. Дослідження було розглянуте і схвалене комісією з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького на засіданні від 16.12.2019, протокол №10. Усі пацієнтки підписали добровільну інформовану згоду на участь у дослідженні.

У проспективній частині у період з 2019 по 2023 рік з метою дослідження факторів прогнозу мікроРНК та TNF плазми крові було забрано 76 зразків плазми крові пацієнток з РЯ. З них 15 були виключені через невідповідність критеріям – наявність вторинної злоякісної неоплазії у анамнезі, злоякісна пухлина яєчників не серозного походження, втрата до спостереження. Середній вік становив 59,7 років (діапазон 32,1 – 78,3 роки). Для дослідження ролі мікроРНК на карциногенез та перебіг РЯ на різних ланках пацієнток було розділено на досліджувані групи залежно від гістологічного підтипу РЯ та виділено контрольну групу (Рис.1)– доброякісні пухлини РЯ; пацієнток з первинним та рецидивним РЯ; чутливих та нечутливих до хіміотерапевтичного лікування; пацієнток на початкових (I-II) та поширених (III-IV) стадіях РЯ; пацієнток, що мали тривалий період виживання (понад 8 років) та тих, що не досягли тривалого виживання.

Додатково з метою оцінки впливу лікувального процесу на рівень мікроРНК у крові пацієток, їх було поділено на групи залежно від моменту забору зразків крові – до початку лікування та після його початку.

З метою дослідження клінічного значення BRCA-статусу РЯ було використано історичну когорту пацієток, що проходили лікування у 2008 – 2017 рр. (ретроспективне клінічне дослідження) – загалом 24 пацієтки. Вік пацієток становив від 28 до 76 років, середній вік – $54,2 \pm 7,9$ років. Діагноз РЯ у всіх хворих верифіковано морфологічно до початку лікування.

РОЗДІЛ 3**МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ ТА КЛІНІЧНІ ПРЕДИКТОРИ
ЧУТЛИВОСТІ ДО ПРЕПАРАТІВ ПЛАТИНИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ
КРИТЕРІЇВ ВІДБОРУ ПАЦІЄНТОК З РАКОМ ЯЄЧНИКА ДЛЯ НІРЕС**

Проблема резистентності РЯ до лікування, високий відсоток рецидивування, а також поглиблення резистентності з кожним наступним курсом лікування залишає питання подолання резистентності пухлин РЯ актуальним. Основними препаратами для лікування РЯ залишаються похідні платини, такі як цисплатин та карбоплатин. Таким чином, прогнозування чутливості до препаратів платини залишається важливим завданням для покращення результатів лікування та індивідуалізації терапії.

Усі пацієнтки групи дослідження отримали стандартну хіміотерапію – паклітаксел 175 мг/м² та карбоплатин АUC 5, кожні 21 дні, протягом 6 циклів. Усі отримали лікування у повному обсязі.

Усі пацієнтки були розділені на 2 групи – дослідну (n=54) та контрольну (n=7), що складалась з жінок з доброякісними новоутворами яєчників. В подальшому пацієнток було розділено на підгрупи, основним критерієм поділу пацієнток був гістологічний підтип РЯ серозний високозлоякісний – 43, серозний низькозлоякісний – 2, світлоклітинний – 3, муцинозний – 2, стромальний – 4 (Рис 3.1).



Рис. 3.1 Патогістологічний розподіл пухлин яєчників

Серед досліджуваної групи у 12 пацієток, попри стандартне лікування, було проведено процедуру НІРЕС після виконання циторедуктивної операції. Період спостереження за пацієтками складав щонайменше 25 місяців. У підсумку, когорта пацієток з проведенням НІРЕС продемонструвала кращу загальну виживаність – медіана не була досягнута проти 24,4 місяців у когорті без проведення НІРЕС (Рис. 3.2). Статистично достовірної різниці не досягнуто – $p=0,09$, проте спостерігалась чітка тенденція на користь ефективності виконання НІРЕС.

У наступних етапах дослідження оцінювалися клінічна значимість біомаркерів для прогнозування ефективності НІРЕС та вплив потенційних маркерів чутливості на чутливість до препаратів платини та виживаність пацієток з РЯ.

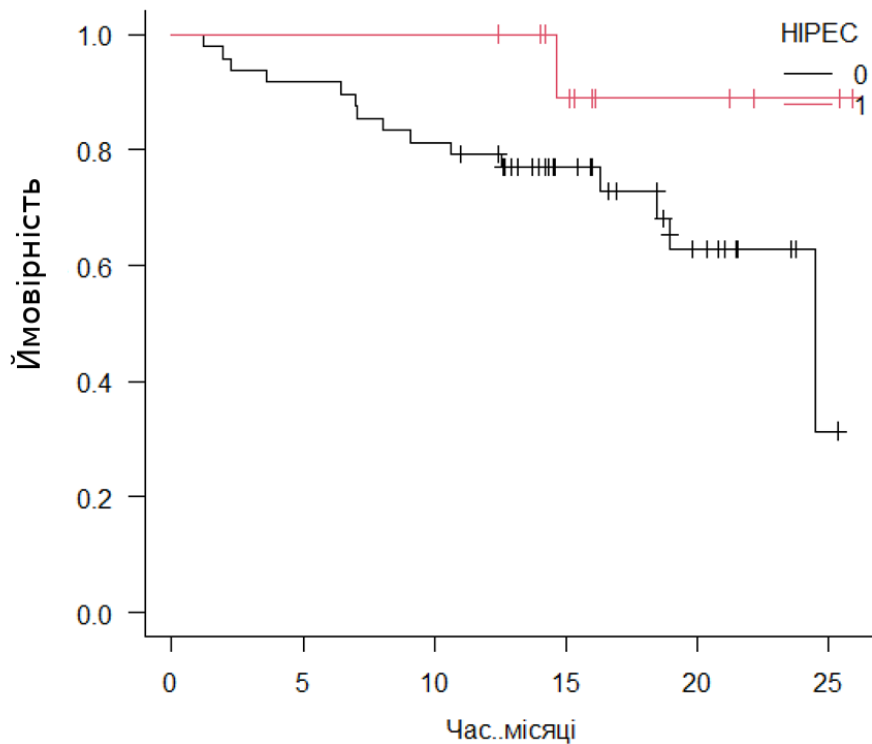


Рис. 3.2 Криві виживання пацієток з проведенням HIPEC (1) та без HIPEC (0) представлена у місяцях (Час)

3.1. Вивчення потенційного прогностичного впливу статусу гену BRCA1 у хворих на РЯ при комбінованому лікуванні

З метою дослідження впливу BRCA-статусу пухлини на відповідь на системну та внутрішньочеревну гіпертермічну хіміотерапію було проведено ретроспективний аналіз тривалості безрецидивного виживання 24 пацієток з серозним високозлоякісним РЯ. Всім пацієнтам було проведено повторну циторедукцію з приводу рецидиву РЯ результатом якої було повне видалення макроскопових пухлинних вогнищ (CC-0) або залишалися пухлинні вогнища, розміри яких не перевищували 2 мм (CC-1). Всім пацієнтам інтраопераційно проведено HIPEC. З біобанку ЛДОРЛДЦ та Кафедри онкології та радіології ФПДО було отримано зразки пацієток, на яких проведено аналіз визначення BRCA-статусу методом ПГХ.

Відсутність експресії білка BRCA у більше ніж 10% пухлинних клітин (соматичну мутацію гену BRCA 1) виявлено у 21 (87,5%) хворої. Усіх хворих із соматичними мутаціями BRCA 1 тестовано ПЛР методом на наявність спадкових мутацій. Серед них спадкові мутації (успадковані мутації у всіх клітинах організму) гену BRCA 1 за допомогою ПЛР виявлено лише у 2 (8,3%) хворих. У однієї хворої мутація 300 T>G гену BRCA 1, та мутація 5382incC гену BRCA 1 у іншій.

Монофакторний аналіз проведено у підгрупах хворих стосовно наявності соматичних мутацій *BRCA1*. Так, медіана загальної виживаності хворих на РЯ з соматичною мутацією гену *BRCA1* склала $15,5 \pm 5,7$ міс (95% CI 4,3-26,7), без соматичної мутації гену *BRCA1* – $12 \pm 3,3$ міс (95% CI 5,6-18,4), $p=0,08$ (рис. 3.1.1). Медіана безрецидивної виживаності теж не продемонструвала вірогідної різниці: у хворих на РЯ з соматичною мутацією гену *BRCA1* вона склала $12 \pm 2,1$ міс (95% CI 7,9-16), та без соматичної мутації гену *BRCA1* – $8 \pm 3,3$ міс (95% CI 1,6-11,4), $p=0,21$ (рис. 3.1.2).

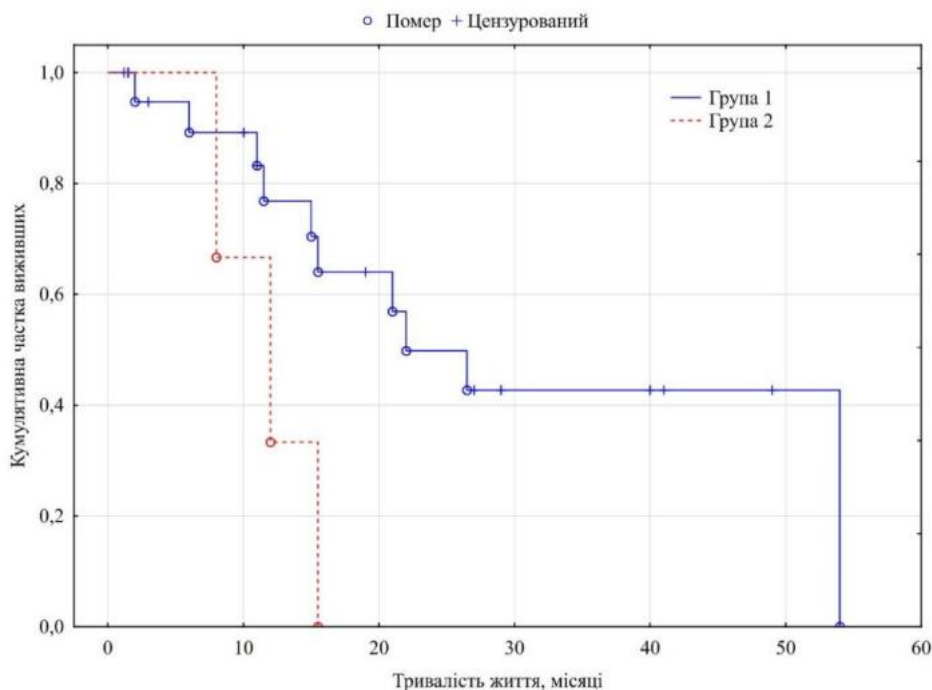


Рис. 3.1.1 Загальна виживаність хворих на РЯ, яким проведено комбіноване лікування, залежно від BRCA-1 статусу.

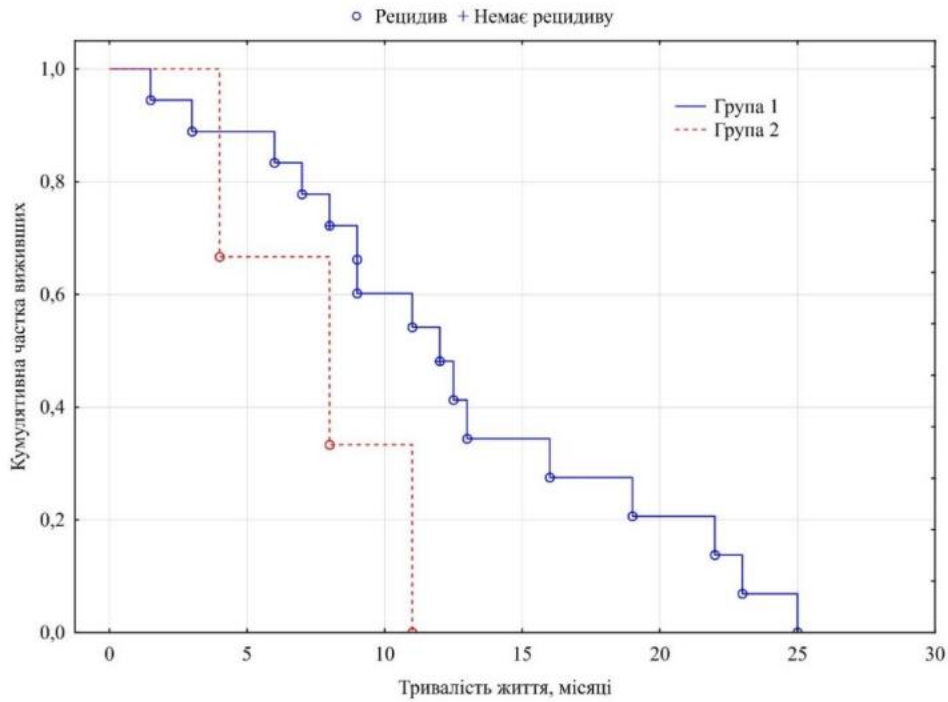


Рис. 3.1.2 Безрецидивна виживаність хворих на РЯ, яким проведено комбіноване лікування, залежно від BRCA-1 статусу.

Однак, при ізольованому аналізі групи хворих з повною циторедукцією (CC-0, 1) з'являється вірогідна різниця загальної виживаності хворих на РЯ при проведенні комбінованого лікування із використанням HIPEC: медіана загальної виживаності хворих з соматичною мутацією гену BRCA 1 склала $22 \pm 4,8$ міс (95% CI 12,5-31,5), без соматичної мутації гену BRCA 1 – $12 \pm 3,3$ міс (95% CI 5,6-18,4), $p=0,047$ (рис. 3.1.3).

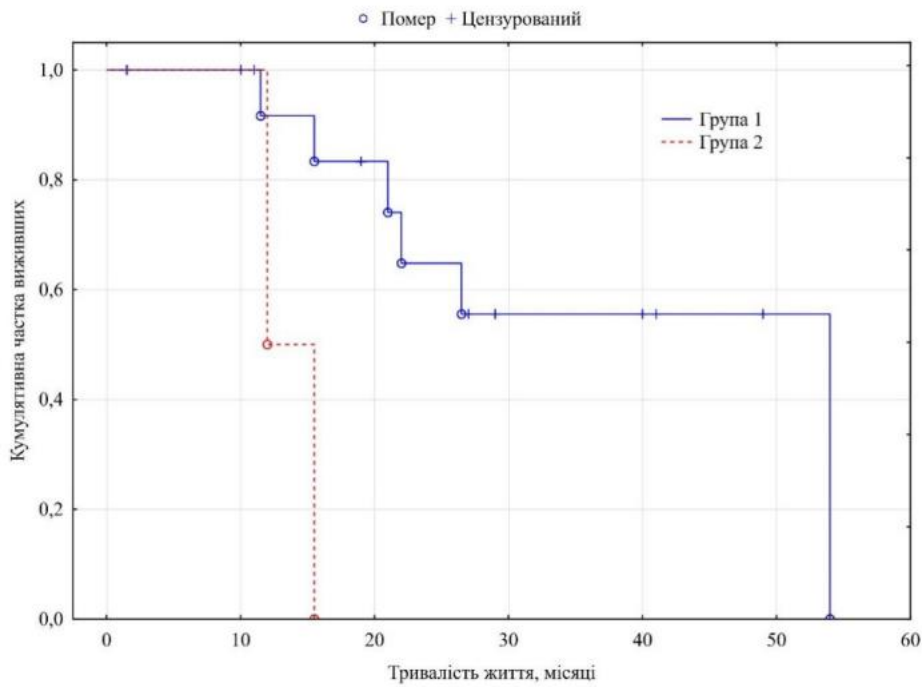


Рис. 3.1.3 Загальна виживаність хворих на РЯ з повною циторедукцією (CC-0, 1), яким проведено комбіноване лікування, залежно від BRCA-1 статусу.

Наявність соматичних мутацій гену *BRCA1* асоційована з вищою чутливістю до гіпертерсичної внутріщньочеревної хіміотерапії та кращим загальним виживанням хворих після проведення повної циторедукції (CC-0).

3.2 Оцінка клінічної значимості прозапальних цитокінів для прогнозування чутливості до препаратів платини

Для оцінки клінічної значимості впливу рівнів TNF плазми крові пацієток з РЯ на чутливість до препаратів платини було протестовано 61 зразків плазми крові пацієток з РЯ. Результати досліджень було розділено залежно від рівня експресії TNF у плазмі крові: високий (≥ 2 нг/л; $n=52$) та низький (<2 нг/л; $n=9$).

Процедуру НІРЕС було проведено 12 пацієткам з зазначеного переліку, з них у 9-х спостірагався високий рівень TNF плазми крові та, відповідно, низький у 3-х пацієток.

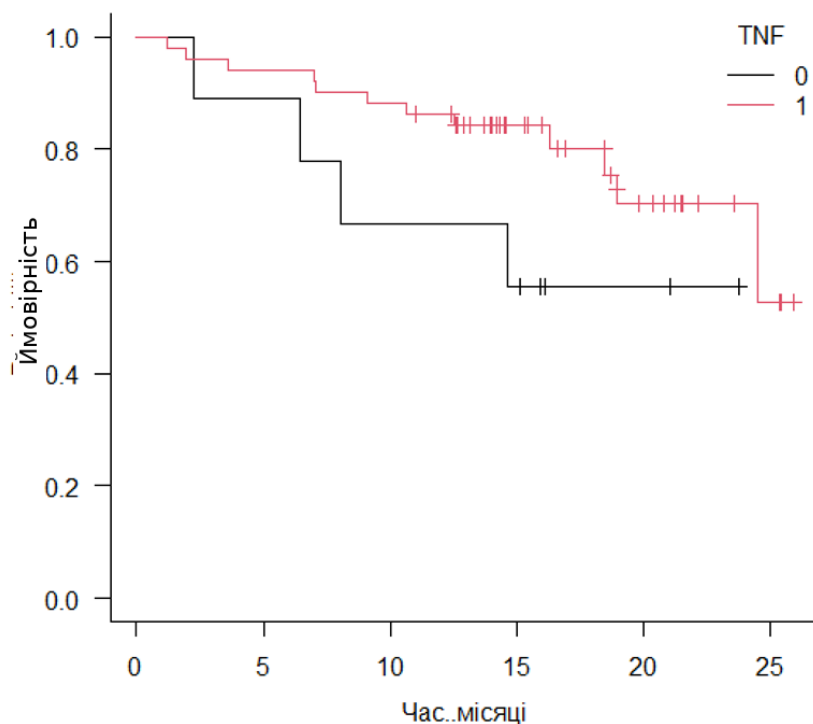


Рис. 3.2.1 Криві виживання пацієнок залежно від рівня експресії TNF у плазмі крові пацієнок (0 – низька експресія, Group 1 – висока експресія)

Аналіз виживаності за методом Каплана–Майєра показав, що пацієнти з високою експресією TNF у плазмі крові мали тенденцію до довшої виживаності порівняно з низькою експресією TNF (медіана 24,5 проти 2,3 місяців відповідно). Хоча різниця не досягла статистичної значущості (log-rank test: $\chi^2=2.3$, $p=0.1$), спостерігається чіткий візуальний тренд на користь TNF=1 . (Рис. 3.2.1). Цей результат може свідчити про потенційний прогностичний вплив TNF, який потребує підтвердження на більших когортах.

Додатково ми оцінювали сукупність факторів застосування методики HIPEC та рівня TNF плазми на виживаність пацієнок. У моделі пропорційних ризиків Кокса було включено HIPEC та TNF як коваріати. HIPEC асоціювався з тенденцією до зниження ризику події (HR 0.18, 95% CI 0.02–1.41, $p=0.10$). Аналогічно, високий рівень TNF у плазмі крові мав асоціацію з вищою виживаністю (HR 0.36, 95% CI 0.11–1.13, $p=0.08$). Загальний тест моделі

наближався до статистичної значущості (Wald test $p=0.07$; log-rank test for model $p=0.05$).

Результати демонструють тенденцію до кращої виживаності у пацієнтів, які отримували HIPEC, а також у пацієнтів із високим рівнем TNF у плазмі крові. Хоча обидва показники не досягли формальної статистичної значущості, зниження hazard ratio більш ніж на 60% для TNF і понад 80% для HIPEC виглядає клінічно значущим і може свідчити про потенційну прогностичну роль цих факторів. Подальші дослідження з більшою вибіркою необхідні для підтвердження цих спостережень.

У підсумку продемонстровано, що рівень TNF плазми крові не має прогностичного впливу на чутливість РЯ до лікування похідними платини.

3.3 Оцінка впливу мікроРНК на карциногенез РЯ

Для оцінки впливу ролі мікроРНК на карциногенез РЯ було оцінено 61 зразок пацієток з пухлинами яєчників. З цією метою досліджувався можливий вплив мікроРНК на «типові» прогностичні ознаки: гістологічний підтип РЯ та поширеність і прогресування РЯ за рахунок визначення рівнів мікроРНК у плазмі крові пацієток залежно від стадії РЯ. У якості контролю використовувалась група пацієток з доброякісними пухлинами РЯ.

Порівняння пацієток проводилось за гістологічними підтипами та РЯ ($n=54$) з доброякісними новоутворами яєчників ($n=7$). Аналіз експресії мікроРНК у плазмі крові пацієток не виявив статистично значимої різниці між рівнем мікроРНК та гістологічним підтипом РЯ – $p>0,05$ для кожного з гістологічних підтипів (Рис. 3.3.1 та Рис. 3.3.2 відповідно). В тому числі при порівнянні контрольної групи з злоякісними варіантами пухлин яєчників – для miR-200a $p=0,282$ (11.47 ± 43.23) та $p=0,701$ (2.37 ± 4.14) для miR-200c.

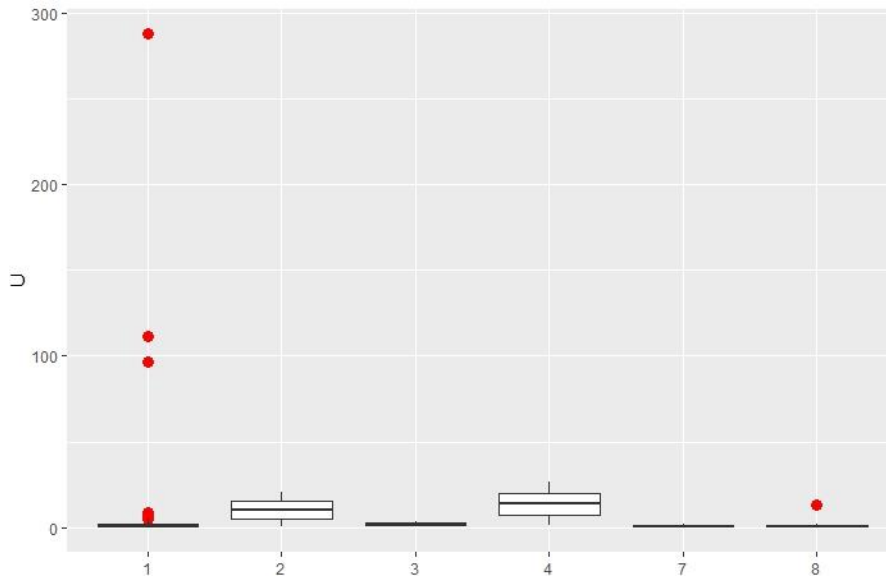


Рис. 3.3.1 Експресія miR-200a залежно від гістологічного підтипу пухлини яєчника: 1 – серозний high-grade РЯ, 2- серозний low-grade РЯ, 3 – світлокоїтинний РЯ, 4 – муцинозний РЯ, 7 – стромальний РЯ, 8 – доброякісні пухлини яєчника

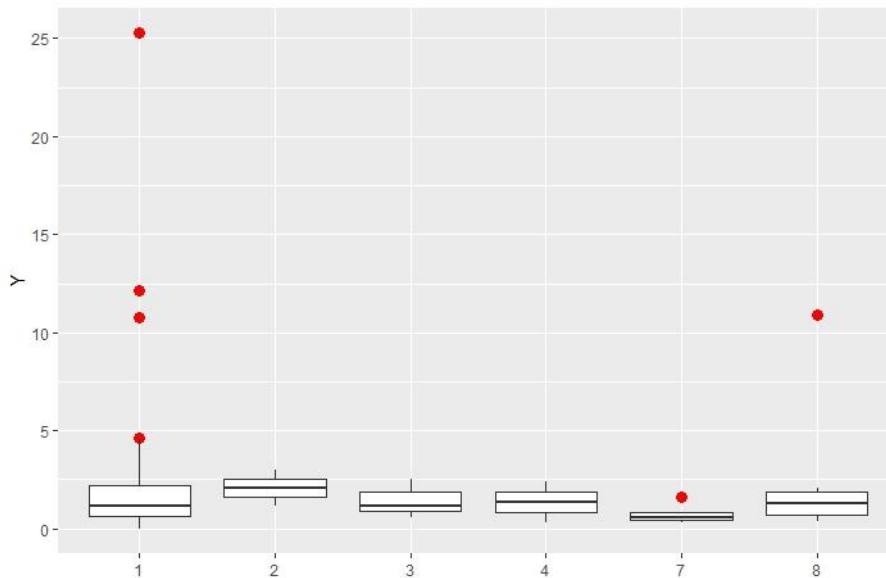


Рис. 3.3.2 Експресія miR-200c залежно від гістологічного підтипу пухлини яєчника: 1 – серозний high-grade РЯ, 2- серозний low-grade РЯ, 3

– світлокоітинний РЯ, 4 – муцинозний РЯ, 7 – стромальний РЯ, 8 – доброякісні пухлини яєчника

У пацієток з доброякісними пухлинами спостерігався низький рівень miR-200a. Для пацієнтів зі злоякісними пухлинами ранніх стадій (I-II) рівень miR-200a також залишається низьким. У групі з пізніми стадіями злоякісних пухлин (III-IV) спостерігається більше варіацій: є випадки значного підвищення рівня miR-200a (Рисунок 3.3.3). Це може свідчити про те, що на пізніх стадіях злоякісні пухлини супроводжуються більш вираженим підвищенням експресії цього мікроРНК. Загалом експресія miR-200a статистично достовірно не відрізнялась між доброякісними та злоякісними пухлинами яєчників та між ранніми та пізніми стадіями РЯ ($p=0,531$) (Таблиця 3.3.1).

Рівень miR-200c є низьким і має невеликий розкид значень. Це свідчить про те, що експресія miR-200c у доброякісних пухлинах є стабільною. Спостерігається тенденція до дещо вищого рівня miR-200c у порівнянні з доброякісними пухлинами, а також тенденція до залежності поширеності РЯ та експресії miR-200c ($p=0,068$) зі зростанням рівня експресії на стадіях РЯ III-IV ($M=2,55\pm 4,41$), порівняно з стадіями I-II ($M=1,80\pm 3,25$). На пізніх стадіях (III-IV) рівень miR-200c може знижуватися, але залишатися вищим за показники доброякісних пухлин. Це може свідчити про те, що miR-200c потенційно може бути біомаркером для диференціації доброякісних та злоякісних пухлин, а також для стадіювання пухлинного процесу. Однак для точних висновків потрібен додатковий статистичний аналіз (Рисунок 3.3.4).

| Група | Діагноз | Me(25%; 75%) | Min | Max | N | p |
|----------|---------|-----------------|------|--------|----|-------|
| miR-200a | I-II | 1.13(0.39;2.13) | 0,01 | 288,01 | 13 | 0,531 |
| | III-IV | 0.90(0.49;2.41) | 0,02 | 111,43 | 41 | |
| | NA | 0.37(0.17;1.33) | 0,03 | 13,18 | 7 | |
| Група | Діагноз | Me(25%; 75%) | Min | Max | N | p |

| | | | | | | |
|----------|--------|-----------------|------|-------|----|-------|
| miR-200c | I-II | 0.49(0.27;2.41) | 0,00 | 12,13 | 13 | 0,068 |
| | III-IV | 1.15(0.75;1.89) | 0,01 | 25,28 | 41 | |
| | NA | 1.29(0.72;1.89) | 0,37 | 10,93 | 7 | |

Таблиця 3.3.1. Рівень експресії мікроРНК у жінок залежно від поширеності процесу РЯ. NA – доброякісні пухлини.

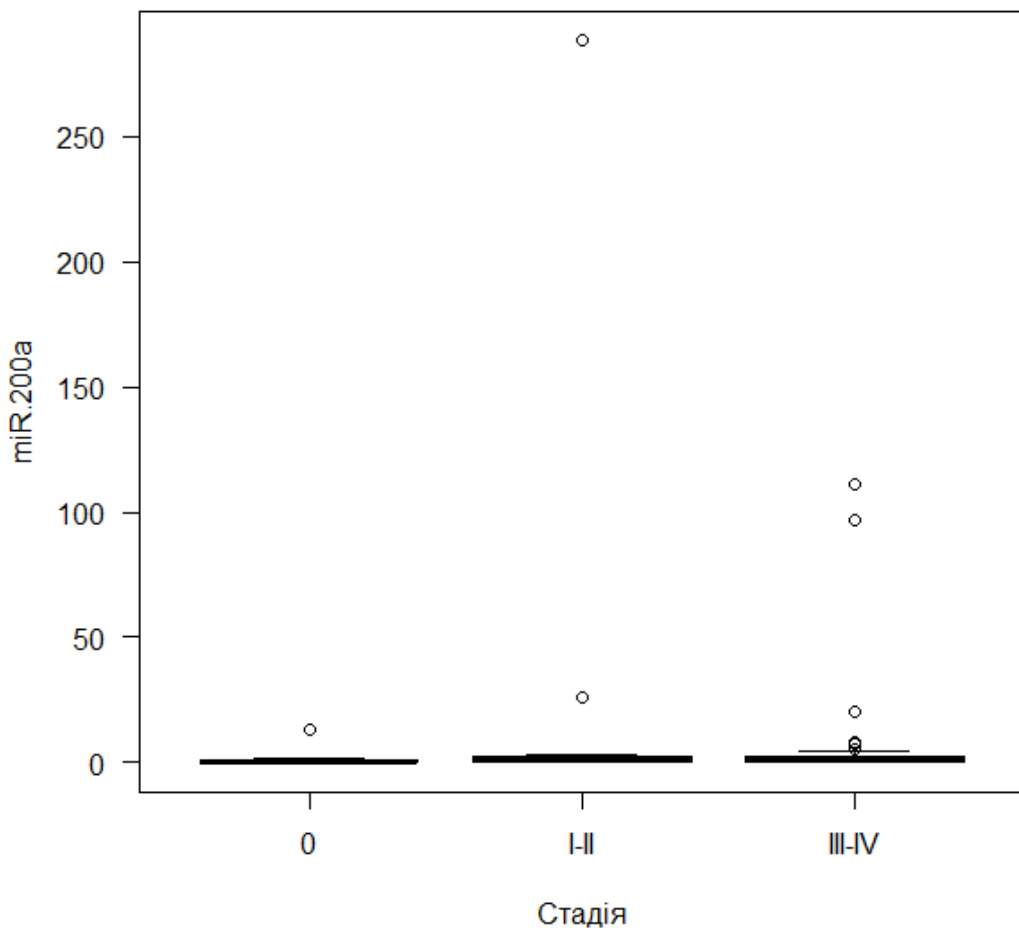


Рис. 3.3.3 Експресія miR-200a залежно від стадії захворювання (0 – доброякісні пухлини)

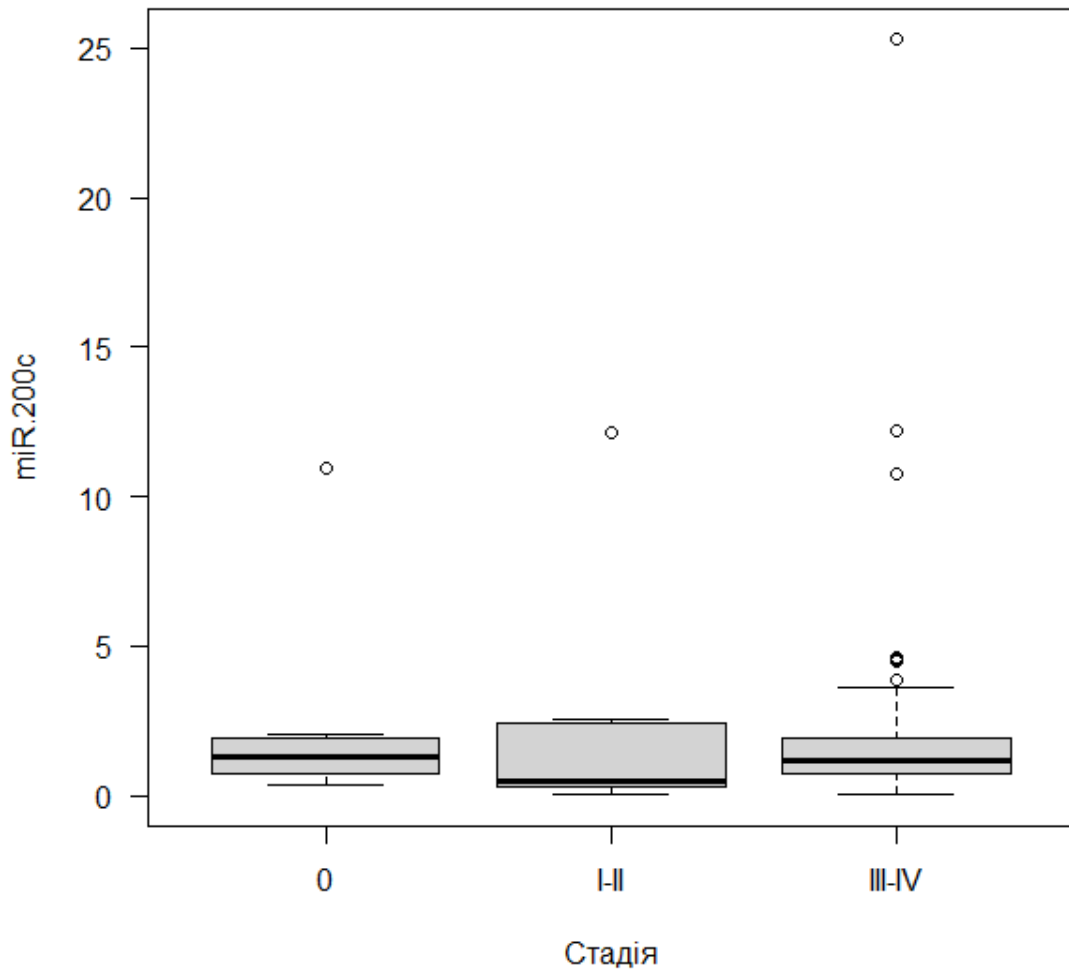


Рис. 3.3.4 **Експресія miR-200c залежно від стадії захворювання (0 – доброякісні пухлини)**

Таким чином, не було виявлено статистично-достовірного зв'язку між експресією мікроРНК miR-200a та miR-200c та традиційними факторами прогнозу РЯ (стадія, морфологінчий підтип).

3.4 Оцінка клінічної значимості рівнів мікроРНК крові на прогнозування чутливості до препаратів платини

З метою оцінки потенційного впливу мікроРНК на формування платиночутливості РЯ було оцінено 54 зразки плазми крові пацієнток з РЯ.

Рівень мікроРНК плазми крові не залежав від впливу лікувального процесу, в тому числі оперативного втручання та хіміотерапії – $p=0,478$ (для miR-200a) та $p= 0,272$ (для miR-200c) (Таблиця 3.4.1).

| Група | Забір | Me(25%; 75%) | Min | Max | N | p |
|----------|-------|-----------------|------|--------|----|-------|
| miR-200a | 1 | 1.17(0.52;2.37) | 0,03 | 96,72 | 34 | 0,333 |
| | 2 | 0.61(0.20;3.60) | 0,01 | 288,01 | 20 | |
| Група | Забір | Me(25%; 75%) | Min | Max | N | p |
| miR-200c | 1 | 0,94(0.59;1.57) | 0,15 | 12,18 | 34 | 0,223 |
| | 2 | 1.36(0.72;3.64) | 0,00 | 25,28 | 20 | |

Таблиця 3.4.1 Рівні експресії мікроРНК залежно від впливу лікувального процесу (1 – забір зразків крові до початку лікувального процесу, 2 – забір зразків крові після початку лікування)

Для miR-200a (рис. 3.4.1) медіанні значення у двох групах є близькими, хоча у групі 2 спостерігається дещо ширший розподіл значень та наявність поодиноких високих показників, включно з екстремальними >200 . Варіабельність у групі 2 є більш вираженою порівняно з групою 1, однак статистично значущих відмінностей між групами не виявлено ($p=0,33$).

Для miR-200c (рис. 3.4.2) медіанний рівень експресії також вищий у групі 2 порівняно з групою 1, із ширшим інтерквартильним розмахом та наявністю поодиноких високих значень (максимальне >25). Проте, як і у випадку з miR-200a, різниця між групами не досягла статистичної значущості ($p=0,22$).

Отримані результати свідчать, що початок лікувального процесу в дослідженій когорті не супроводжується достовірними змінами рівнів експресії miR-200a та miR-200c у плазмі крові, хоча у частини пацієнтів після початку терапії спостерігається збільшення варіабельності показників.

досліджень із більшою вибіркою та уточненим дизайном, зокрема з контролем часу забору зразків і включенням додаткових біомаркерів для комплексної оцінки чутливості до лікування.

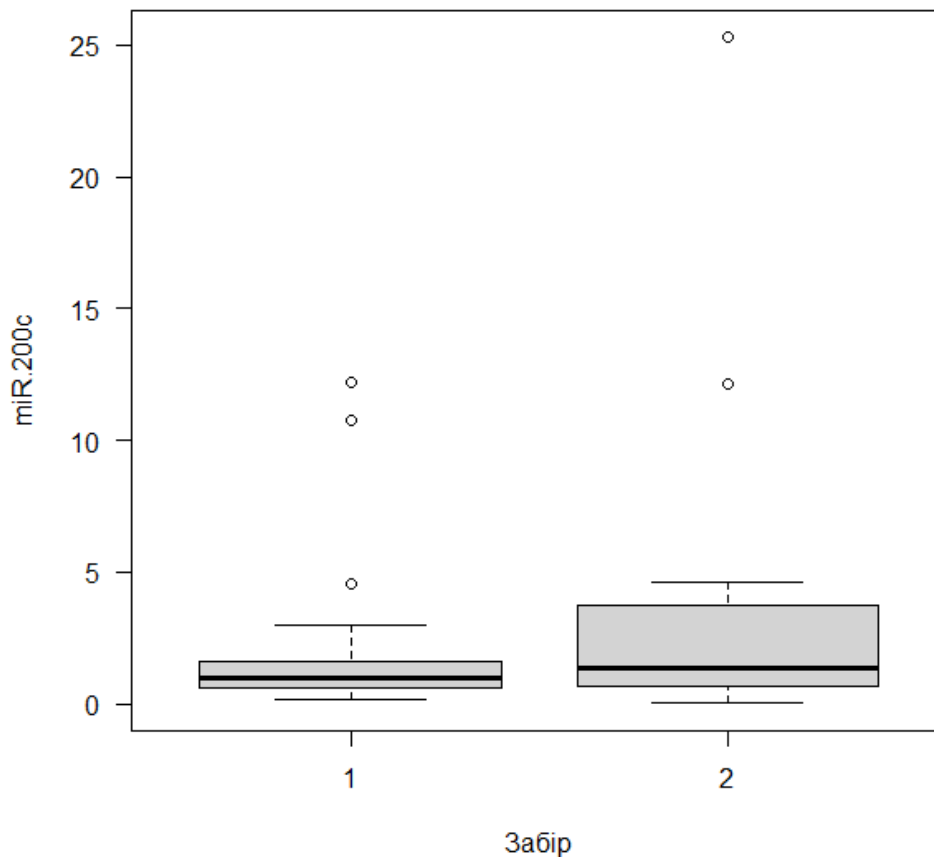


Рис. 3.4.2 Розподіл експресії miR-200c залежно від впливу лікувального процесу (1 – забір зразків крові до початку лікувального процесу, 2 – забір зразків крові після початку лікування)

| Група | Чутливість | Me(25%; 75%) | Min | Max | N | p |
|----------|------------|-----------------|------|-------|---|-------|
| miR-200a | 1 | 0.54(0.37;1.43) | 0,19 | 20,39 | 7 | 0,292 |

| | | | | | | |
|--------------|-------------------|-------------------------|------------|------------|----------|----------|
| | 2 | 0.75(0.26;2.24) | 0,01 | 111,43 | 30 | |
| | 3 | 1.52(0.87;4.50) | 0,14 | 288,01 | 17 | |
| Група | Чутливість | Me(25%; 75%) | Min | Max | N | p |
| miR-200c | 1 | 1.16(1.14;2.15) | 1,01 | 3,58 | 7 | 0,496 |
| | 2 | 0.96(0.35;2.54) | 0,00 | 25,28 | 30 | |
| | 3 | 1.12(0.63;1.51) | 0,37 | 12,13 | 17 | |

Таблиця 3.4.2 Рівні експресії мікроРНК у групах із різною чутливістю до хіміотерапії (1 – помірночутливі, 2 – високочутливі, 3 – нечутливі)

Аналіз експресії miR-200a у групах пацієнок, розділених згідно з чутливістю до хіміотерапії, вказував на низьку експресію мікроРНК у кожній з груп (Рисунок 3.4.3), а медіана рівнів miR-200a майже однакова у всіх трьох групах (Таблиця 3.4.2). Аналогічні результати спостерігались і при аналізі експресії miR-200c у групах порівняння (Рисунок 3.4.4, Таблиця 3.4.2). Рівень експресії мікроРНК плазми крові не відрізнявся у пацієнок, що були чутливі (рецидив понад 6 місяців з моменту завершення лікування) та нечутливі до лікування – $p=0,292$ (для miR-200a) та $p= 0,496$ (для miR-200c).

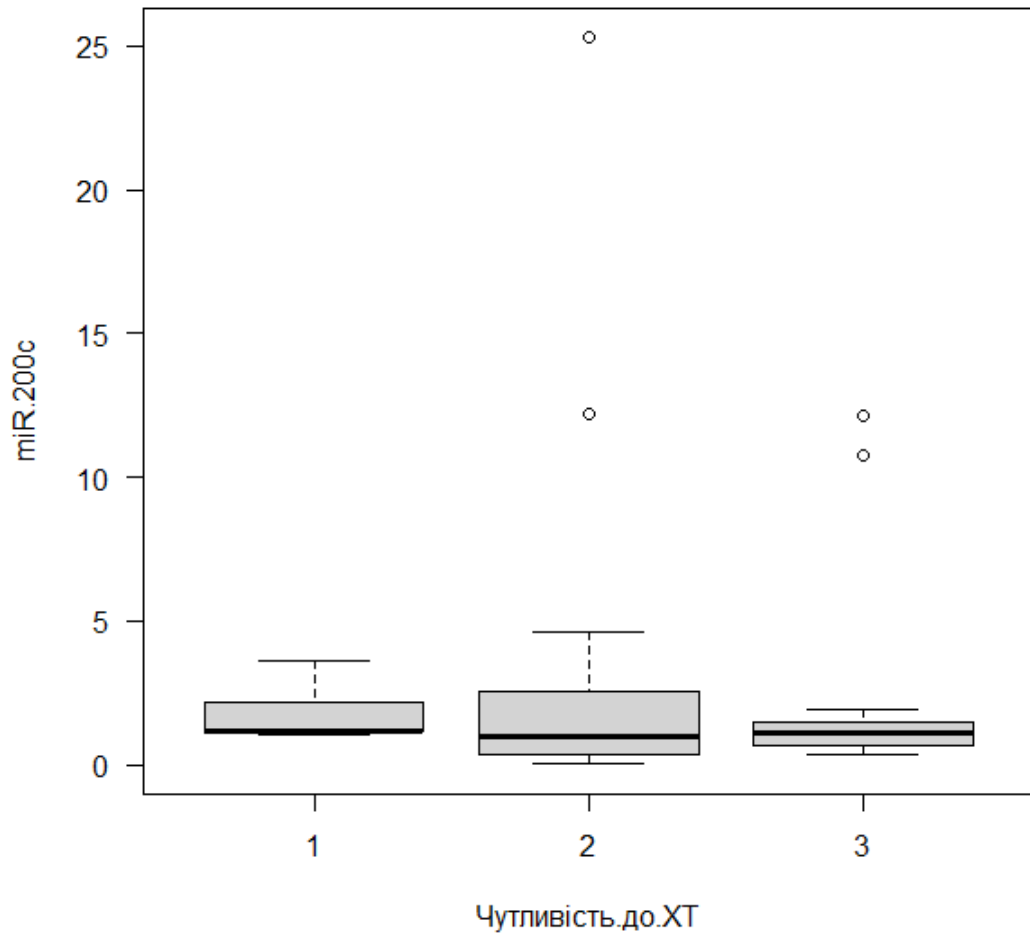


Рис. 3.4.4 Розподіл експресії miR-200c залежно від чутливості до ХТ (1 – помірночутливі, 2 – високочутливі, 3 – нечутливі)

Період спостереження складав щонайменше 13 місяців. Медіана виживаності для пацієток з вперше виявленим РЯ становила 568 днів та 1913 для повторних (рецидивних) РЯ. Не виявлено залежності поміж рівнем експресії мікроРНК плазми крові та безрецидивною виживаністю пацієток ($p > 0,05$).

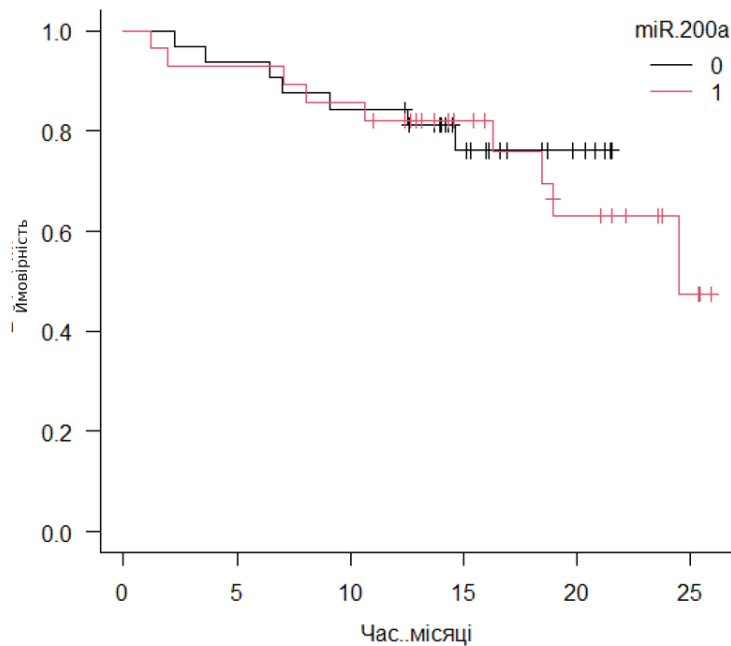


Рис. 3.4.5 Криві Каплана–Майєра загальної виживаності за рівнем miR-200a (0 — низький, 1 — високий)

Високий рівень експресії мікроРНК було визначено як ≥ 1 для miR-200a (n=29) та miR-200c (n=35) та низький < 1 для miR-200a (n=32) та miR-200c (n=26). Різниця загальної виживаності між групами пацієток з низькою (0) та високою експресією (1) miR-200a у плазмі крові не виявлено (log-rank p=0.80); медіана OS не досягнута для групи з низьким рівнем експресії miR-200a і становить ~24.5 міс. (95% CI 18.5–NA) для miR-200a=1. (Рис.3.4.5).

При подальшій оцінці даних з допомогою моделі пропорційних ризиків Кокса було включено НІРЕС та miR-200a як коваріати. НІРЕС демонстрував тенденцію до зниження ризику події, але без статистичної значущості (HR 0.21, 95% CI 0.03–1.60, p=0.131). Рівень miR-200a не асоціювався з виживаністю (HR 1.03, 95% CI 0.37–2.87, p=0.951). Глобальні тести моделі не були значущими (likelihood ratio p=0.20; Wald p=0.30; score [log-rank] p=0.20).

Наш аналіз показав тенденцію до кращої виживаності у пацієнтів, які отримували НІРЕС (орієнтовне зниження ризику події $\approx 79\%$; HR 0,21, 95% ДІ 0,03–1,60). Водночас для miR-200a переконливого зв'язку з виживаністю не

виявлено (HR 1,03, 95% ДІ 0,37–2,87). Хоча оцінка ефекту НІРЕС виглядає потенційно клінічно значущою, обидва показники не досягли формальної статистичної значущості.

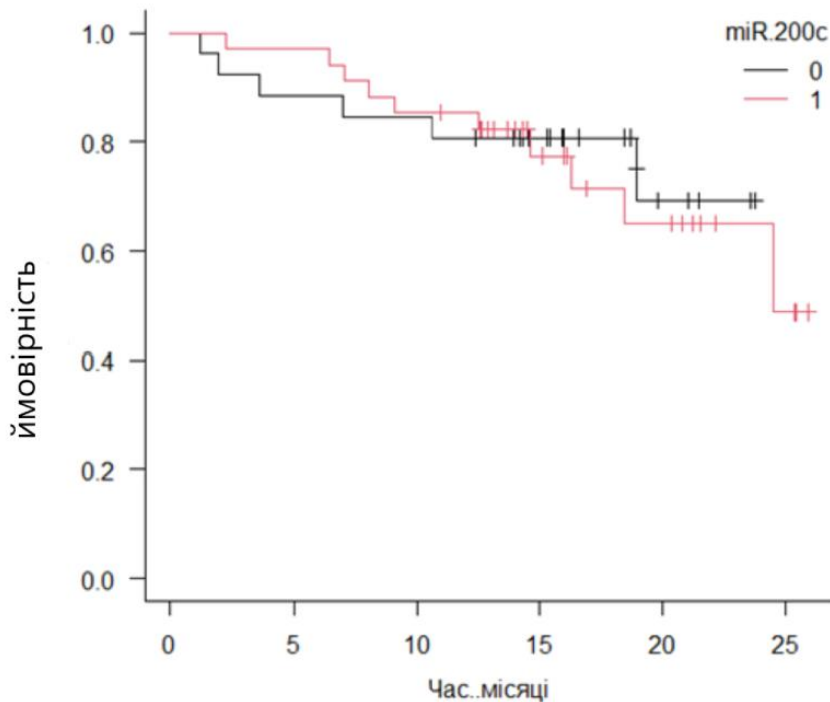


Рис. 3.4.6 Криві Каплана–Майєра загальної виживаності за рівнем miR-200c (0 — низький, 1 — високий)

Криві Каплана–Майєра для групи з низьким рівнем експресії miR-200c (n=26) і високим рівнем (n=34) не відрізнялися: log-rank $\chi^2 \approx 0.0$, $p=0.90$. Медіана загальної виживаності не досягнута у групі з низьким рівнем експресії miR-200c у плазмі крові (95% ДІ нижня межа 18.9 міс), тоді як у групі з високим рівнем експресії miR-200c медіана становила 24.47 міс (95% ДІ 16.3–NA). (Рис. 3.4.6).

При подальшому аналізі даних з допомогою багатофакторної моделі пропорційних ризиків Кокса, що включала НІРЕС та miR-200c, НІРЕС демонстрував тенденцію до зниження ризику смерті, однак без статистичної значущості (HR 0.19, 95% ДІ 0.02–1.49, $p=0.114$). Рівень miR-200c не асоціювався з виживаністю (HR 1.35, 95% ДІ 0.48–3.82, $p=0.575$). Глобальні

тести моделі були незначущими (likelihood ratio $p=0.10$; Wald $p=0.30$; score [log-rank] $p=0.20$).

Спостерігається тренд на користь застосування НІРЕС із відносним зниженням ризику на $\approx 80\%$ у групі пацієток з високим рівнем експресії miR-200c та miR-200a.

Таким чином, висока експресія miR-200a та miR-200c у плазмі крові пацієток асоційована з вищою чутливістю РЯ до внутрішньочеревної гіпертермічної хіміоперфузії. Дані мікроРНК можуть бути перспективним маркером прогнозу ефективності лікування РЯ.

3.5 Оцінка взаємозв'язку молекулярних маркерів як незалежних факторів прогнозу перебігу РЯ

Для оцінки клінічної достовірності мікроРНК як маркера хіміочутливості проводилось порівняння з експресії miR-200a та miR-200c у плазмі крові та наявністю *BRCA1* мутації у пухлинній тканині. У сучасні стандарти лікування РЯ статус РЯ є часто визначальним для вибору найбільш раціональної тактики лікування. У ході цього дослідження оцінювався можливий вплив мікроРНК на експресію гена *BRCA*.

Кількість мутацій *BRCA1* серед 54 обстежених зразків становила 8 випадків (14,8%). За морфотипом виявлені зразки поділялись наступним чином: світлоклітинний РЯ – 1 (12,5%), низькозлоякісний – 1 (12,5%), муцинозний – 1 (12,5%) та високозлоякісний РЯ – 5 (62,5%) (Рис 3.5.1).



Рис. 3.5.1. Розподіл мутацій BRCA1 за гістологічним підтипом РЯ

Для оцінки клінічної залежності *BRCA1* та експресії мікроРНК проводилась кореляційна оцінка поміж рівнем експресії miR-200a та miR-200c та наявністю *BRCA1* мутації (Рис. 3.4.2, 3.4.3).

| Група | Експресія <i>BRCA1</i> | Me(25%; 75%) | Min | Max | N | p |
|----------|------------------------|-------------------|-------|--------|----|------|
| miR-200a | 1 | 0,52 (0,29; 2,01) | 0,11 | 26,35 | 8 | 0,48 |
| | 2 | 1,08 (0,5; 2,38) | 0,01 | 288,01 | 46 | |
| Група | Експресія <i>BRCA1</i> | Me(25%; 75%) | Min | Max | N | p |
| miR-200c | 1 | 1,19 (1,06; 2,45) | 0,15 | 2,99 | 8 | 0,53 |
| | 2 | 1,08 (0,59; 1,86) | 0,004 | 25,28 | 46 | |

Таблиця 3.5.1 Рівень експресії мікроРНК у жінок з РЯ залежно від наявності мутації *BRCA1* (1 – наявна мутація, 2 – мутація відсутня)

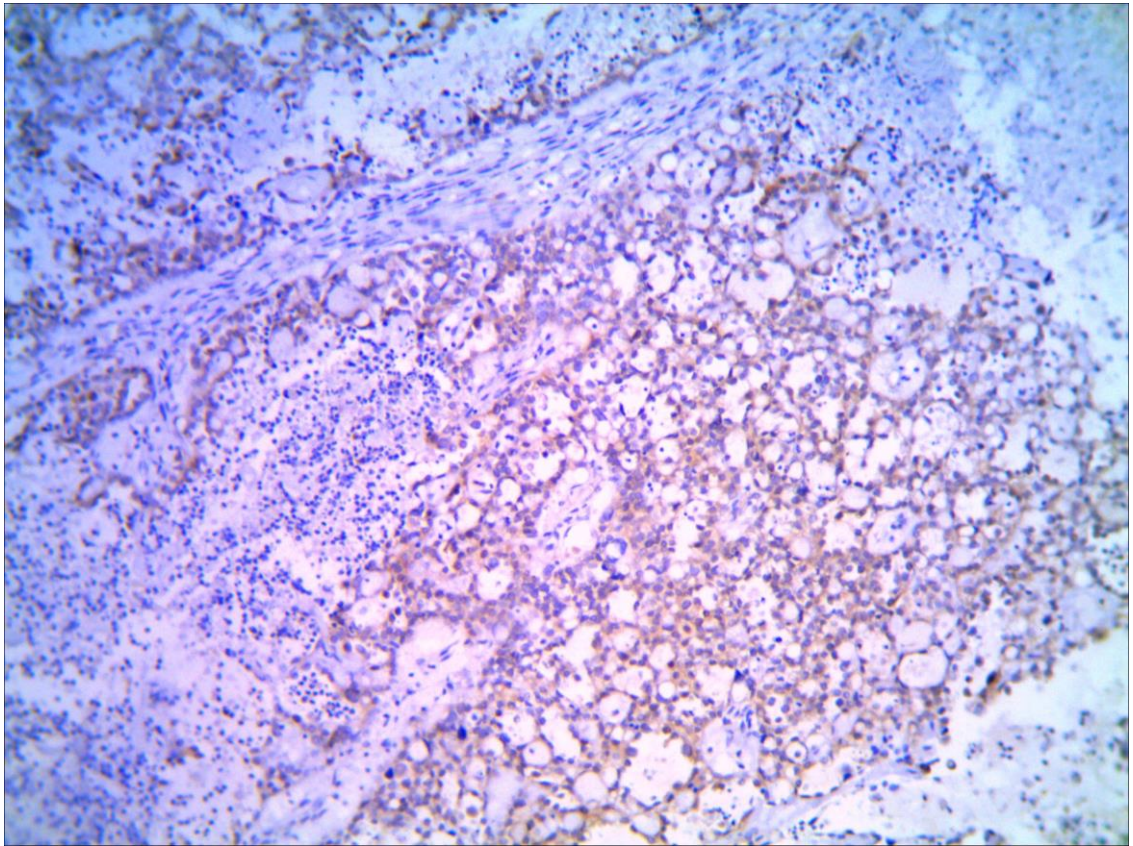


Рис. 3.5.2 Гістологічний зріз зразку високозлоякісного РЯ зі збереженою експресією *BRCA1*

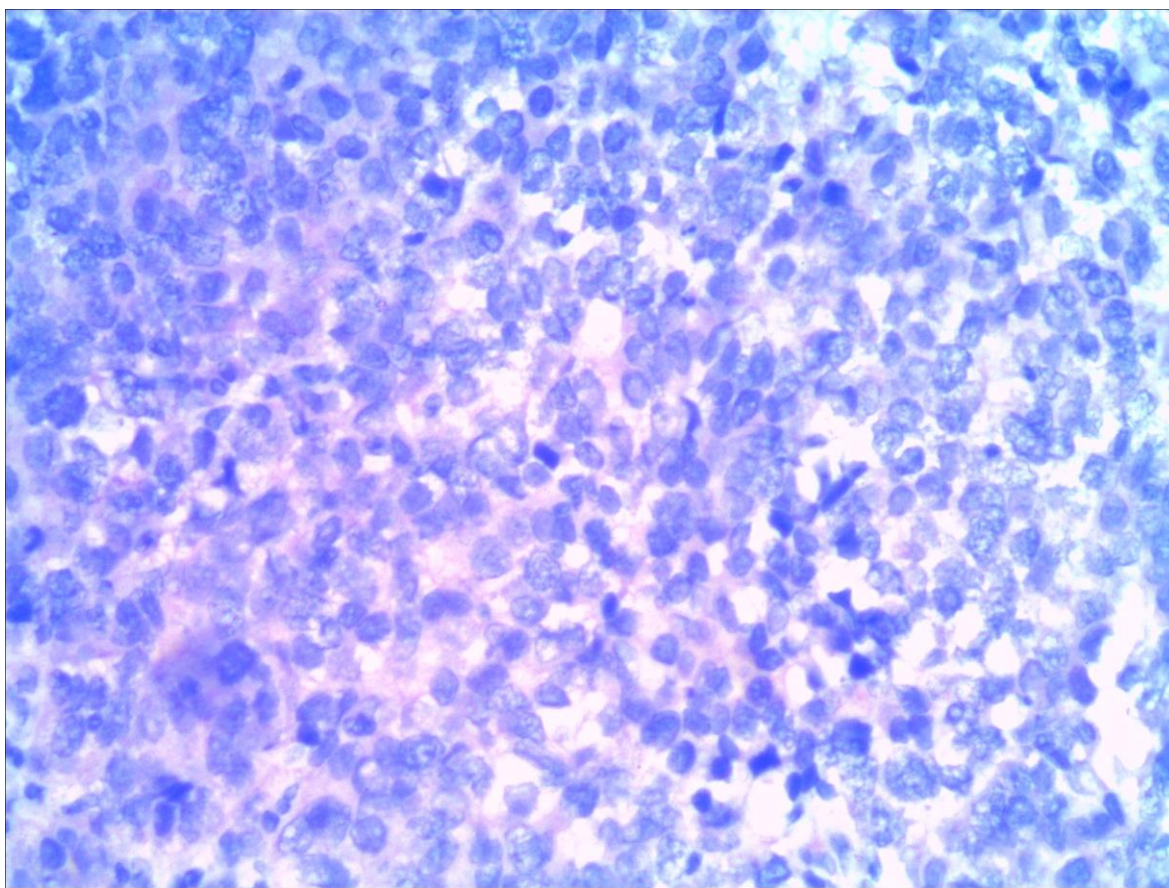


Рис. 3.5.3 Гістологічний зріз зразку високозлоякісного РЯ з мутацією гена *BRCA1*

На рисунку 3.5.4 зображено розподіл рівнів miR-200a у двох групах пацієнтів: з мутацією *BRCA1* та без неї. На графіку видно, що у групі пацієнтів з мутацією *BRCA1* є тенденція до підвищення рівня miR-200a, хоча це не є статистично значущим – $p=0,48$.

На рисунку 3.5.4 наведено порівняння розподілу рівнів miR-200c між пацієнтками з різним BRCA-статусом. Медіани у групах були близькими: 1,19 у групі з наявною мутацією та 1,08 у групі з відсутньою мутацією. Максимальні значення були вищими у 1-й групі (25,28) порівняно з 2-ю групою (2,99), що свідчить про наявність окремих екстремальних випадків у другій групі. Це може вказувати на наявність біологічно відмінних підтипів пухлин або вплив додаткових молекулярних механізмів регуляції експресії

miR-200c у даній групі. Подальше дослідження цих випадків із використанням розширених методів молекулярного профілювання є доцільним для з'ясування їх клінічного значення.

Різниця між групами не досягла статистичної значущості ($p=0,53$), що вказує на відсутність переконливих доказів відмінності рівнів miR-200c залежно від BRCA1-статусу в досліджуваній когорті.

З отриманих даних статистично-достовірного зв'язку поміж експресією miR-200a, miR-200c та BRCA-статусом пухлини не встановлено (Табл. 3.5.1).

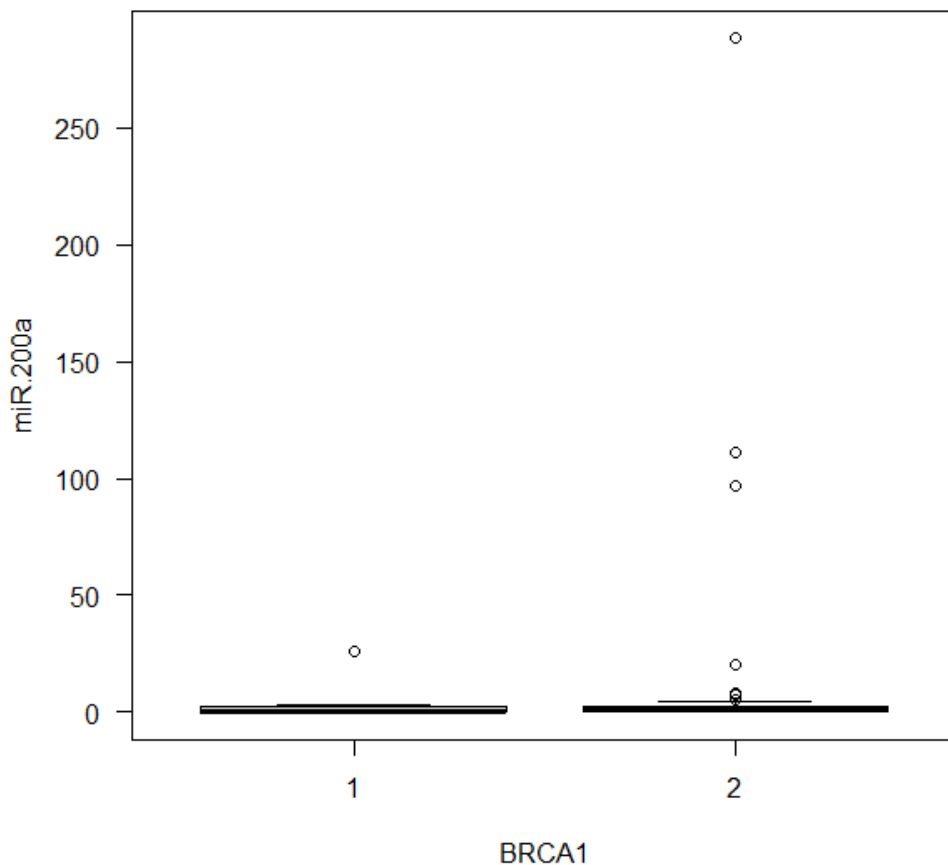


Рис. 3.5.4 Експресія miR-200a в залежності від статусу BRCA1 (1 – наявна мутація, 2 – мутація відсутня)

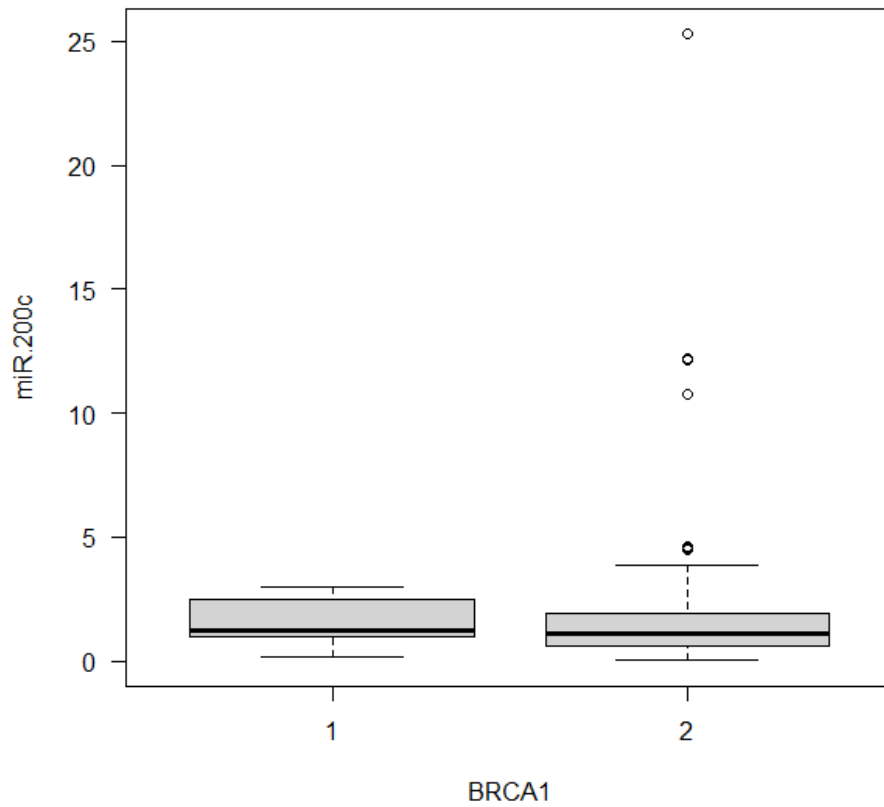


Рис. 3.5.5 Експресія miR-200c в залежності від статусу BRCA1 (1 – наявна мутація, 2 – мутація відсутня)

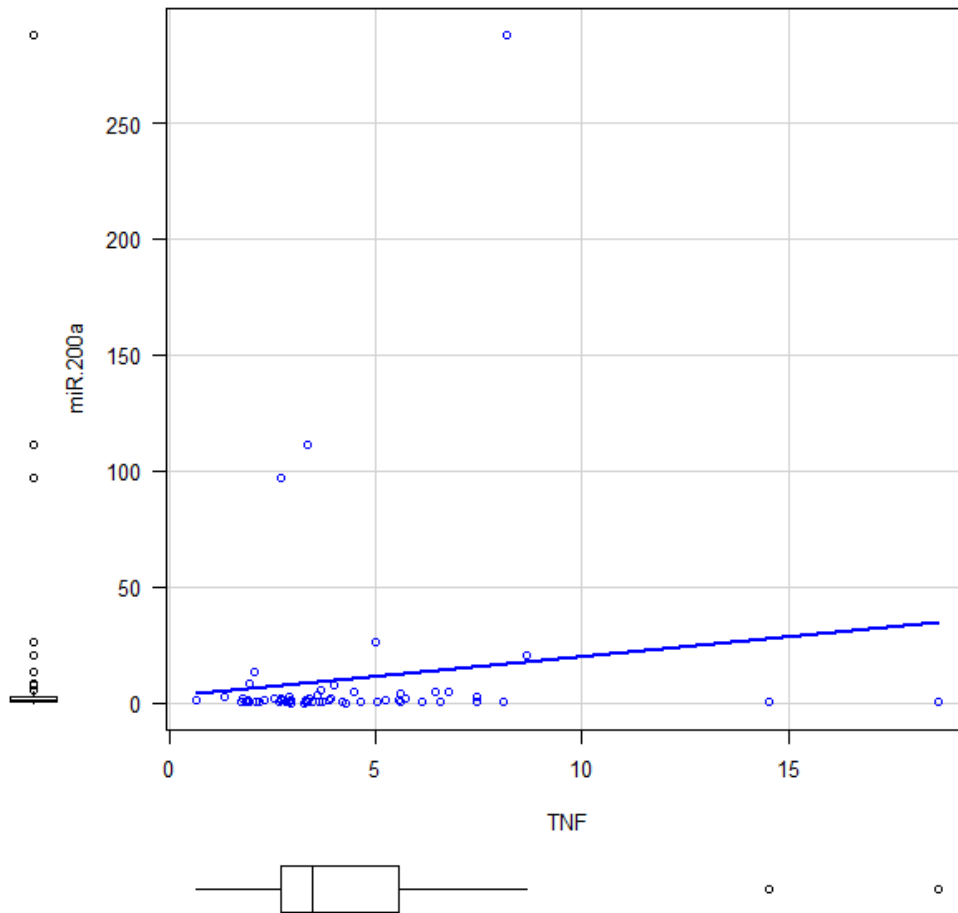


Рис. 3.5.6 Кореляція між miR-200a та TNF

Одним з етапів дослідження була оцінка взаємозв'язку прозапальних цитокінів плазми крові та плазматичних мікроРНК. З наведених даних літератури було встановлено, що TNF має позитивний вплив на формування пухлини, її прогресування та поширення. Для оцінки взаємозв'язку мікроРНК як системного фактора та прозапальних цитокінів плазми крові оцінювався кореляційний зв'язок поміж мікроРНК та TNF.

На рисунку 3.5.6 показано кореляцію між miR 200a та TNF. Лінія регресії на графіку є майже горизонтальною, що також свідчить про слабку кореляцію між двома змінними. Коефіцієнт кореляції Спірмена становить 0,00748, що свідчить про дуже слабку позитивну кореляцію між двома змінними, $p=0,954$.

Отримані результати свідчать про те, що між miR-200a та TNF немає статистично значущої кореляції.

На рисунку 3.5.7 показано кореляцію між miR 200c та TNF. Лінія регресії на графіку є майже горизонтальною, що також свідчить про слабку кореляцію між двома змінними. Коефіцієнт кореляції Спірмена становить $-0,0346$, що свідчить про дуже слабку негативну кореляцію між двома змінними, $p=0,791$.

Отримані результати свідчать про те, що між miR-200c та TNF немає статистично значущої кореляції.

Відсутність достовірної кореляції між рівнями BRCA1, TNF та мікроРНК, що вказує на складність механізмів регуляції пухлинного росту.

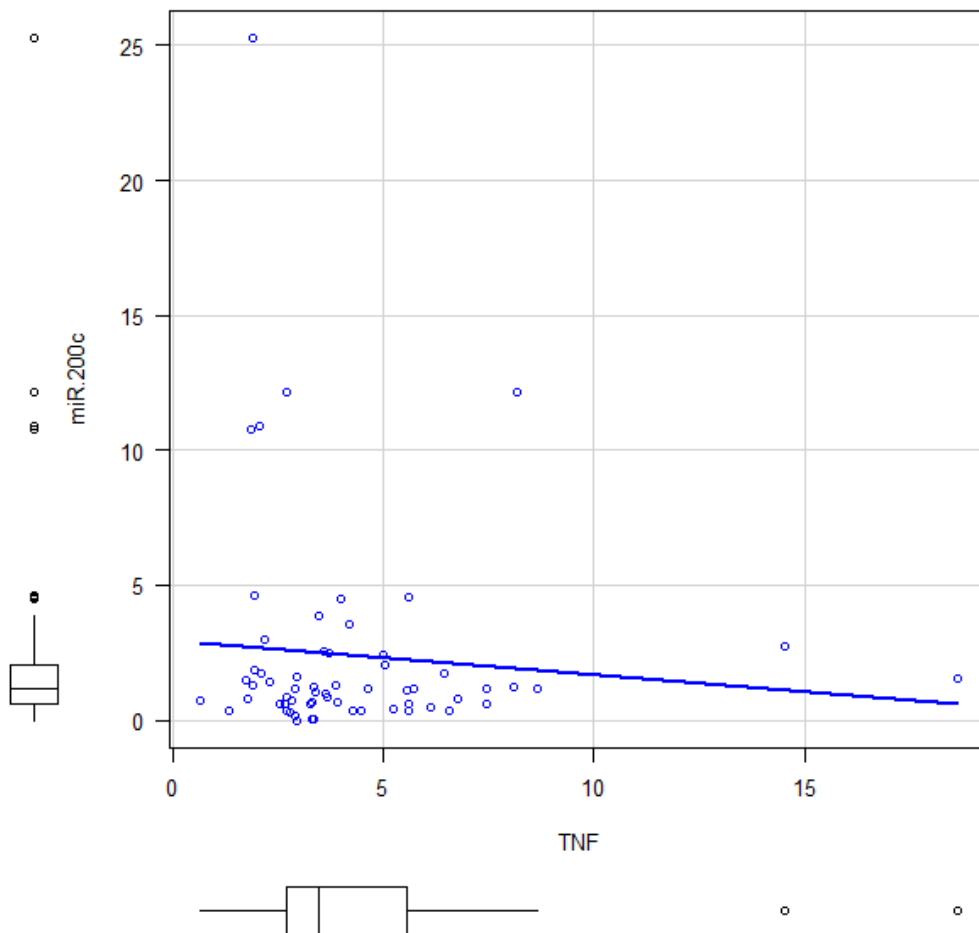


Рис. 3.5.7 Кореляція між miR-200c та TNF

3.6. Аналіз додаткових критеріїв селекції пацієнок з РЯ до проведення процедури НІРЕС

При порівнянні експресії miR-200a у плазмі крові пацієнок з групи «довгожителів» та контрольної групи спостерігалось, що більшість пацієнок у обох групах мають низький рівень експресії miR-200a – це свідчить про те, що середній рівень цього біомаркера є подібним для довгожителів та контрольної групи. Аутсайтери присутні в обох групах, але вони більш виражені у групі довгожителів: У групі довгожителів деякі індивідууми демонструють значно вищий рівень експресії miR-200a (наприклад, одне значення близько 250) – Рис. 3.6.1. Це може свідчити про те, що у частини довгожителів підвищений рівень цього біомаркера відіграє певну роль у їх довголітті. Статистично достовірно ($p=0,01$) спостерігався нижчий рівень експресії miR-200c ($M=1,02\pm 1,43$) у пацієнок, що жили тривало після завершення лікування (понад 8 років), порівняно з тими, що не досягли тривалого виживання ($M=2,69\pm 4,40$) (Таблиця 3.6.1). У контрольній групі спостерігалася більша варіативність рівня miR-200c, включаючи значно вищі максимальні значення. Довгожителі демонстрували стабільніший і нижчий рівень miR-200c (Рис. 3.6.2).

| Група | Довгожитель | Me(25%; 75%) | Min | Max | N | p |
|----------|-------------|-----------------|------|--------|----|-------|
| miR-200a | 1 | 0.81(0.18;1.73) | 0,01 | 111,43 | 11 | 0,480 |
| | 2 | 0.89(0.38;2.38) | 0,03 | 288,01 | 50 | |
| Група | Довгожитель | Me(25%; 75%) | Min | Max | N | p |
| miR-200c | 1 | 0.34(0.30;0.90) | 0,00 | 4,53 | 11 | 0,010 |
| | 2 | 1.19(0.75;2.33) | 0,01 | 25,28 | 50 | |

Таблиця 3.6.1 Рівень експресії мікроРНК у жінок залежно від тривалості виживання (1 – довгожитель, 2 – група порівняння)

Площа під ROC-кривою склала 0.75, 95% ДІ 0.551 - 0.949 (Рис. 3.6.3). На рисунку відображено результат однофакторного аналізу. Отримана модель була статично значущою ($p=0,018$). Порогове значення експресії miR-200c у точці cut-off і найвище значення індексу Юдена становило 3,026 (Рис. 3.6.4). Рівень miR-200c мав статистично значимий позитивний вплив на тривалість виживання пацієнток з РЯ, коли рівень її експресії у плазмі крові досягав вказаного значення (чутливість – 96%, специфічність – 54,5%).

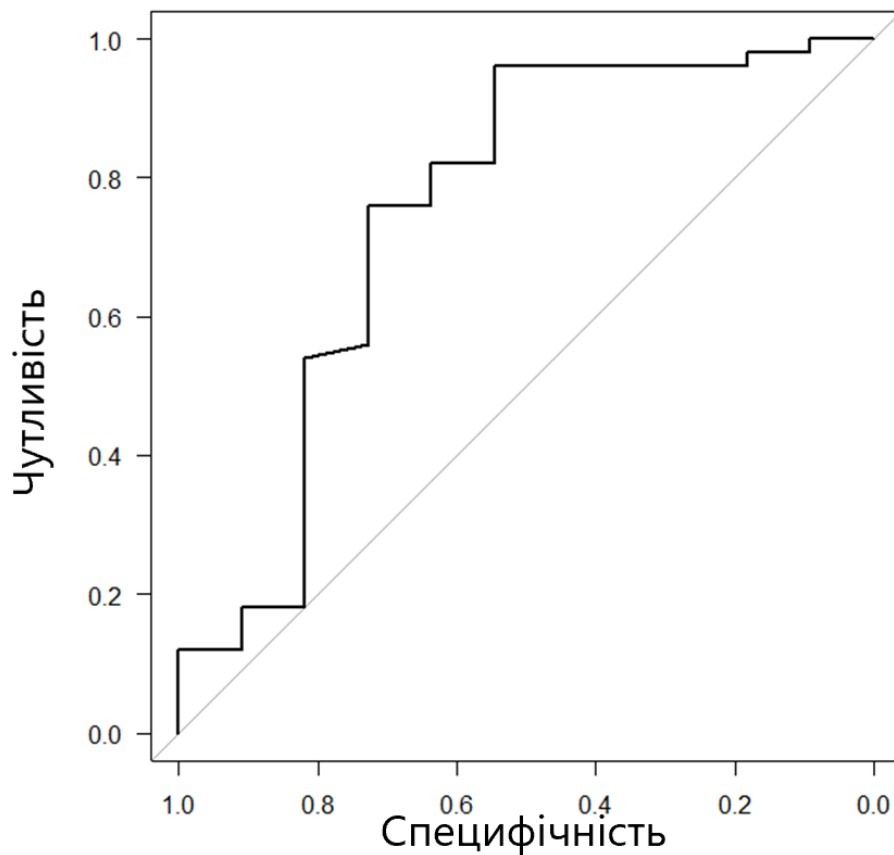


Рис 3.6.3 ROC-крива залежності між експресією miR-200a та тривалістю виживання пацієнток

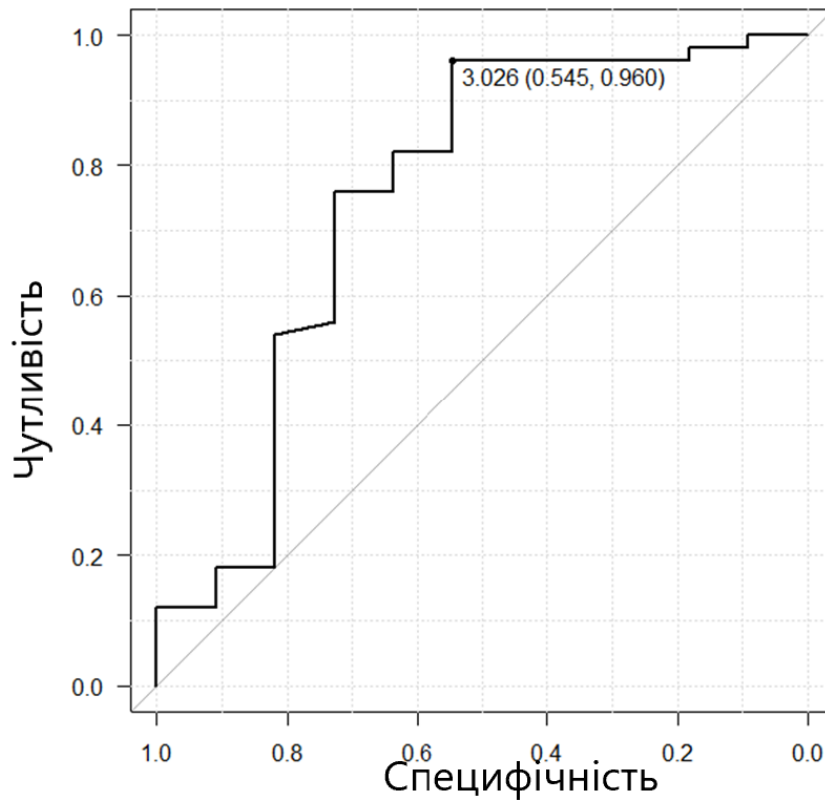


Рис 3.6.4 Порогове значення експресії miR-200c для впливу на тривалість виживання пацієнток



Рис. 3.6.5 Рекомендований алгоритм для клінічної практики

Отримані результати дають можливість запропонувати алгоритм обстеження пацієток з РЯ перед НІРЕС (Рис. 3.6.5).

Висновки

- 1) вперше було встановлено зв'язки з рівнем miR-200c та тривалістю загального виживання пацієток з РЯ після комбінованого лікування.
- 2) Виявлено, що у групі довгожителів (виживаність понад 8 років) рівень miR-200c був підвищеним, а отже дана мікроРНК може розглядатися як потенційний біомаркер для прогнозування тривалої виживаності пацієток із раком яєчників (понад 8 років).

Результати цього розділу висвітлені у наукових працях:

1. Hrytsay I, Mazur Yu, Ferneza S, Sulaieva O, Volodko N. Implementation of Molecular Profiling in the Diagnosis and Treatment Planning of Patients With Advanced Ovarian Cancer. Proceedings of the Shevchenko Scientific Society. Medical Sciences. 2024;1(73):1-9. DOI: 10.25040/ntsh2024.01.13
2. Фернеза С.Р., Володько Н.А. «Клінічні аспекти визначення експресії родини мікроРНК-200 у пацієток з раком яєчників». Науково-практична конференція з міжнародною участю: «Гнатишаківські читання 2022: мультидисциплінарний підхід в комбінованому лікуванні раку яєчників», 25-26 лютого 2022
3. С.Р. Фернеза, Р.Р. Ярема, Г.В. Макух, Н.А. Володько. «Клінічні аспекти визначення експресії сімейств мікроРНК-200 та let-7 у пацієток з раком яєчників». Науково-практична конференція молодих вчених «Сучасна онкологія: від фундаментальних досліджень до нових терапевтичних підходів», т.23 4 2021 12-13 жовтня 2021, Київ

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

РЯ залишається однією з найагресивніших онкогінекологічних патологій, характеризуючись високою смертністю, особливо на пізніх стадіях захворювання. Основним методом лікування є хірургічне втручання в поєднанні з хіміотерапією на основі препаратів платини. Однак розвиток хіміорезистентності значно обмежує ефективність терапії, що підкреслює необхідність у пошуку надійних прогностичних маркерів чутливості до хіміотерапії.

З цією метою у рамках цього дослідження проводилась оцінка потенційних маркерів крові пацієток з РЯ з метою прогнозу відповіді на системну та внутрішньочеревну хіміотерапію.

Одним з таких маркерів обрано мікроРНК, зокрема родини 200. Оскільки мікроРНК родини miR-200 (зокрема miR-200a і miR-200c) є ключовими регуляторами ЕМП — процесу, що лежить в основі інвазії, метастазування та розвитку хіміорезистентності в раку яєчників. Жодна інша родина мікроРНК не має такої прямої ролі в інгібуванні ЕМП, як miR-200. До прикладу, miR-200a та miR-200c безпосередньо таргетують ZEB1 та ZEB2 — інгібітори E-cadherin, центрального маркера епітеліального фенотипу. Їх супресія сприяє підтримці епітеліального фенотипу та запобігає ЕМГ [271]. Це унікально для родини miR-200 — інші мікроРНК (наприклад, miR-21, miR-155, miR-214) залучені до загальних процесів проліферації, апоптозу або ангиогенезу, але не мають такої вузької та прямої регуляції ЕМП у РЯ.

Поточні дослідження також вказують на те, що експресія мікроРНК родини 200, зокрема miR-200a та miR-200c, може варіювати залежно від гістологічного підтипу раку яєчників. Однак деякі публікації ставлять під сумнів чіткий зв'язок між рівнем експресії цих мікроРНК та конкретними гістологічними підтипами пухлин.

У дослідженні Koutsaki et al. [272] зазначається, що хоча експресія членів родини miR-200 була виявлена в різних підтипах раку яєчників, чітка кореляція між рівнем експресії та гістологічним підтипом не завжди простежується, що може бути пов'язано з гетерогенністю пухлин та різними методологічними підходами в дослідженнях. Інше дослідження вказує на те, що експресія miR-200a та miR-200c може бути підвищеною в різних гістологічних підтипах, таких як серозний та муцинозний, але ці відмінності не завжди є статистично значущими, що ускладнює використання цих мікроРНК як надійних біомаркерів для класифікації підтипів раку яєчників [273]. Крім того, в огляді літератури зазначається, що хоча члени родини miR-200 загалом асоціюються з епітеліальним фенотипом та можуть бути пов'язані з процесами ЕМТ, їхня експресія може змінюватися залежно від стадії захворювання та інших клінічних факторів, що ускладнює встановлення прямого зв'язку з гістологічним підтипом [274]. У ході нашого дослідження нам не вдалось підтвердити наявності статистично достовірної залежності між рівнями експресії мікроРНК родини 200 та гістологічним підтипом РЯ.

miR-200c була неодноразово ідентифікована як предиктор чутливості до паклітакселу та цисплатину у пацієток із епітеліальним РЯ. До прикладу, в одному з досліджень, пацієтки з високим рівнем експресії miR-200c мали вищу відповідь на хіміотерапію та довший період безрецидивного виживання. Дана мікроРНК регулювала експресію β III-тубуліну, що асоційований з резистентністю до таксанів [232,275]. Попри вплив на чутливість до цитостатиків, miR-200c може впливати на чутливість РЯ до таргетної терапії. miR-200c знижує рівень NRP1, що сприяє відновленню чутливості резистентних клітин раку яєчників до олапарибу [276]. Anastasiadou et al. демонстрували подібний ефект підвищення чутливості до PARP-інгібіторів за умови *BRCA1*-wild-type. Підвищення рівня експресії miR-200c-3p зменшувала експресію β -катеніну та c-Мус та призводила до зниження проліферації клітин та підвищення чутливості до олапарибу [277]. Це відкриває перспективи для

комбінованої терапії з PARP-інгібіторами. В іншому дослідженні втрата експресії miR-200c була характерною для резистентних до хіміотерапії клітинних ліній РЯ, підкреслюючи її значення як маркера чутливості до лікування [217].

Для мікроРНК характерним є і системний вплив на регуляцію імунної відповіді організму. В одному з досліджень було продемонстровано, що мікроРНК родини 200 пригнічують сигнальний шлях PD-1, впливаючи на PD-L1 та зменшуючи експресію останнього, щоб запобігти ухиленню пухлин від впливу імунної системи [278], зокрема такий механізм впливу є описаний і для miR-200c-3p [277]. Це, зокрема, є свідченням впливу мікроРНК на регуляцію імунної відповіді організму на формування злоякісних пухлин. Потенційно, такий механізм регуляції дозволяє розглядати мікроРНК родини 200 як каталізаторів ефективності інгібіторів контрольних точок (check-point inhibitors), застосування яких показане не лише при РЯ, а й при більшості інших злоякісних новоутворень.

Інша досліджувана нами miR-200a у літературі здебільшого представлена як карциногенна. Зокрема, пацієнтки з високим рівнем miR-200a/b мають коротший загальний та безрецидивний періоди виживання [279]. miR-200a-3p таргетує PCDH9, знижуючи його експресію, що призводить до підвищення проліферації та інвазивності клітин раку яєчників [280]. Тим не менш це визначає дані мікроРНК як потенційні біомаркери несприятливого прогнозу.

Інші мікроРНК, як let-7, miR-214 або miR-9, мають ширший спектр мішеней, але менш стабільну кореляцію з відповіддю на хіміотерапію та менш підтверджену клінічну доказову базу [220,281,282].

Окрім цього, за даними метааналізу [283], miR-200c продемонструвала кращу діагностичну чутливість і специфічність серед інших мікроРНК:

зокрема вищу діагностичну точність для miR-200c порівняно з miR-200a – miR-200c: AUC: 0.94 (95% CI: 0.92–0.96), чутливість: 0.90 (95% CI: 0.69–0.97), специфічність: 0.87 (95% CI: 0.37–0.99); miR-200a: AUC: 0.79 (95% CI: 0.76–0.83), чутливість: 0.76 (95% CI: 0.67–0.84), специфічність: 0.71 (95% CI: 0.49–0.86). Це підкреслює потенціал miR-200c як більш надійного біомаркера для діагностики раку яєчників.

Враховуючи ці дані, нами було проведено оцінку рівнів експресії мікроРНК родини 200 (miR-200a та miR-200c) у плазмі крові пацієток з РЯ з метою визначення їх прогностичної значущості у чутливості до препаратів платини.

Результати нашого дослідження співпадають з тенденціями представленими у даних літератури. Зокрема, на прогностичну значущість miR-200c вказує зниження її експресії спостерігалось у пацієток, які мали тривалу виживаність (понад 8 років), порівняно з тими, хто не досягнув тривалого виживання. Позитивний вплив miR-200c на кращу виживаність узгоджується з даними міжнародних досліджень. Зокрема, дослідження показали, що miR-200c може виступати як онкосупресор, інгібуючи епітеліально-мезенхімальний перехід та зменшуючи інвазивність пухлинних клітин. Це свідчить про потенціал використання miR-200c як прогностичного маркера чутливості до платинових препаратів. Це вказує на потенційну онкосупресивну роль цієї мікроРНК та її прогностичну цінність. Водночас, підвищена експресія miR-200c у пацієток з коротшою виживаністю може бути реакцією на активний пухлинний процес, що також підтверджується іншими дослідженнями, згідно даних літератури. Новизною цього дослідження є виявлення взаємозв'язку між експресією miR-200c та тривалою (понад 8 років) виживаністю пацієток з РЯ. Ми встановили також тенденцію до вищої експресії miR-200c на пізніх стадіях РЯ (III-IV), що узгоджується з літературними даними про її роль у прогресуванні пухлинного процесу та

метастатичному поширенні, що також корелює з даними літератури, де висока експресія miR-200c була пов'язана з пізніми стадіями захворювання (III–IV за FIGO) та вищим ступенем злоякісності пухлин, незалежно від їх гістологічного типу [222].

Водночас, для miR-200a подібної залежності не виявлено, що може свідчити про її більш обмежену роль у пухлинній прогресії. За результатами даного дослідження для miR-200a не спостерігалось статистично значущої залежності між її експресією та клінічними результатами, що ставить під сумнів її прогностичну значущість у контексті чутливості до хіміотерапії.

Незважаючи на відомий вплив мутацій *BRCA1* на підвищену чутливість до платинових препаратів, у даному дослідженні не було виявлено статистично значущого зв'язку між експресією miR-200a та miR-200c і *BRCA1*-статусом пухлин. Це може бути пов'язано з обмеженим розміром вибірки або іншими молекулярними механізмами, що потребує подальших досліджень.

Роль *BRCA*-статусу у розвитку злоякісних нозологій є добре вивченою станом на сьогодні. Пошук мутацій *BRCA* вже є стандартом обстеження та прогнозу для ряду нозологій (наприклад раку грудної залози та яєчників). У межах цього дослідження у клінічних умовах ми досліджували взаємозв'язок поміж статусом *BRCA* та експресією miR-200a і miR-200c, а також вплив *BRCA*-статусу на ефективність HIPEC при раку яєчників.

До прикладу, miR-146a, miR-146b-5p та miR-210 були виявлені у стані гіперекспресії у пацієток з триплет-негативним раком грудної залози. miR-200c залишалась гіпоекспресованою у пацієток з *BRCA* мутацією, а рівень miR-3665, miR-3960, miR-4417, miR-4498 та мікроРНК родини let-7 при цьому був підвищеним [284]. Окрім цього, підвищена експресія miR-200c позитивно

впливає на чутливість клітин РЯ до PARP-інгібіторів при *BRCA1* wild-type РЯ [277].

Роль фактора некрозу пухлини (TNF) у формуванні пухлинного мікрооточення та розвитку хіміорезистентності є предметом активних досліджень. Зокрема, TNF відіграє важливу роль у реалізації механізму «уникнення» пухлиною відповіді на вплив імунної системи через взаємодію з білком CD47.

CD47 є трансмембранним білком, який відіграє ключову роль у формуванні пухлинного мікрооточення, зокрема через взаємодію з TNF- α . CD47 функціонує як сигнальна молекула, що пригнічує фагоцитоз, взаємодіючи з рецептором SIRP α на макрофагах, тим самим сприяючи імунному уникненню пухлинних клітин. Дослідження показали, що TNF- α , який є ключовим цитокіном у запальних процесах, може стимулювати експресію CD47 на поверхні пухлинних клітин. Це відбувається через активацію NF- κ B шляху, що призводить до збільшення зв'язування NF- κ B з промотором гена CD47 [285].

Крім того, підвищена експресія CD47 асоціюється зі зменшенням інфільтрації пухлини макрофагами та підвищеним рівнем IL-10/TNF- α , що вказує на формування імуносупресивного пухлинного мікрооточення [286]. Таким чином, CD47 сприяє імунному уникненню пухлинних клітин та формуванню імуносупресивного мікрооточення, зокрема через взаємодію з TNF- α .

У даному дослідженні ми також досліджували системний вплив мікроРНК на TNF. До прикладу, miR-200a відіграє важливу роль у регуляції сигнального шляху NF- κ B/TNF- α у дорослих пацієнтів із діабетичною нефропатією. Зниження рівня miR-200a корелює з підвищеною активністю NF- κ B та збільшенням рівня TNF- α , що сприяє запаленню та прогресуванню

захворювання [287]. Це потенційно вказує на роль miR-200a у формуванні системної відповіді на карциногенез. Проте, у нашому дослідженні не було встановлено значущого кореляційного зв'язку між рівнями TNF у плазмі та експресією досліджуваних мікроРНК. Це може свідчити про те, що TNF не є основним регулятором експресії miR-200a та miR-200c, та навпаки, або ж про більш складний механізм взаємодій регуляції, що потребує глибшого вивчення.

МікроРНК також виступають ключовими регуляторами запальних процесів, зокрема впливаючи на рівень інтерлейкінів. Підвищена експресія miR-200a-3p сприяє запаленню при сепсис-індукованому ушкодженні мозку через механізм, пов'язаний з реактивними формами кисню (ROS) та активацією NLRP3. Зниження рівня miR-200a-3p призводить до збільшення експресії Keap1/Nrf2/HO-1, що, в свою чергу, зменшує активацію NLRP3 та знижує рівні інтерлейкінів IL-1 β та IL-18. Це свідчить про те, що miR-200a-3p відіграє важливу роль у регуляції запальних процесів через вплив на ці інтерлейкіни [288]. Таким чином, мікроРНК можуть як посилювати, так і послаблювати запальні реакції, впливаючи на експресію інтерлейкінів та інших медіаторів запалення. Це відкриває перспективи для розробки нових терапевтичних підходів, спрямованих на модулювання активності специфічних мікроРНК з метою контролю запальних процесів та, відповідно, формування пухлинного мікрооточення, а відтак, і процесів карциногенезу.

Згадані маркери прогнозу (мікроРНК, TNF, *BRCA1*) були описані у ряді досліджень у контексті їхнього впливу на ефективність проведення НІПЕС, що, зокрема, оцінювалось і в даному дослідженні. До прикладу Chen et al. [289] аналізував перитонеальну рідину пацієнтів з прогресуючим РЯ після НІПЕС. У результаті було продемонстровано зміни в експресії мікроРНК (miR-1290, miR-1972, miR-1254, miR-483-5p, miR-574-3p, та miR-574-5p) та цитокінів (MCP-1, IL-6, IL-6sR, TIMP-1, RANTES, та G-CSF), включаючи TNF- α . Це

свідчить про участь мікроРНК у регуляції імунної відповіді та потенційний вплив на ефективність НІРЕС. Зміни у мікрооточенні пухлини після проведення НІРЕС продемонстровано і у дослідженні Fetsych et al. [171]. Продемонстровані зміни розцінювались як позитивний лікувальний ефект НІРЕС. Натомість підвищення рівня TNF- α після НІРЕС може вказувати на активацію імунної відповіді та запальних процесів, що потенційно впливає на ефективність лікування [289].

Окремої уваги потребує дослідження впливу *BRCA*-статусу пухлини на чутливість до НІРЕС при РЯ. Загалом, мутаційний статус *BRCA* сьогодні є фундаментальною частиною ведення пацієток із раком яєчників. Він виступає одночасно як прогностичний та предиктивний біомаркер, так і терапевтична ціль для нових підходів лікування [290].

Хоча загалом НІРЕС значно покращує виживаність без прогресування та загальну виживаність у пацієток з поширеним раком яєчника, його ефективність може відрізнятися залежно від молекулярного профілю пухлини. Ефективність НІРЕС у лікуванні поширеного раку яєчника була доведена у великих рандомізованих дослідженнях. Дослідження OVНІРЕС, опубліковане в 2018 році, стало ключовим, показавши, що додавання НІРЕС до інтервальної циторедуктивної хірургії значно покращує як виживаність без прогресування, так і загальну виживаність. Медіана загальної виживаності в групі НІРЕС була на 12 місяців довшою, ніж у контрольній групі (45,7 проти 33,9 місяців), без значного підвищення частоти серйозних ускладнень [291].

Клінічні дані підкреслюють, що успіх НІРЕС значною мірою залежить від ретельного відбору пацієток. Оптимальна циторедукція (відсутність або мінімальний залишок пухлини — *CC0* або *CC1*) є обов'язковою умовою, оскільки НІРЕС ефективна лише проти мікроскопічних залишків пухлини [292]. Додатковим важливим фактором є чутливість до платинових препаратів.

Пацієнтки, у яких спостерігається тривала ремісія після попередньої хіміотерапії на основі платини, є кращими кандидатами для НІРЕС [293].

Ефективність НІРЕС залежить від клінічного контексту, особливо від того, чи застосовується вона при первинному поширеному захворюванні, чи при рецидиві. На сьогодні НІРЕС найбільш обґрунтовано застосовувати саме при первинному поширеному раку яєчника, особливо в рамках інтервальної циторедуктивної хірургії після неоад'ювантної хіміотерапії. Мета-аналізи, що об'єднали дані різних рандомізованих клінічних випробувань, підтверджують значний позитивний вплив на виживаність. Наприклад, один з оновлених мета-аналізів, який включав дані 8 рандомізованих клінічних випробувань з 1259 пацієнтками, виявив, що НІРЕС значно покращує загальну виживаність (HR = 0,76) [294]. Найбільша перевага спостерігалася саме в підгрупі пацієнток з первинним раком яєчника (HR 0,66), що вказує на сильний терапевтичний ефект у цій групі. Важливо, що ця користь особливо помітна, коли НІРЕС виконується після досягнення оптимальної циторедукції (відсутність або мінімальний залишок пухлини, CC-0/CC-1).

Роль НІРЕС при рецидивному раку яєчника менш однозначна. Хоча окремі ретроспективні дослідження та мета-аналізи вказували на певну користь, результати рандомізованих клінічних випробувань, присвячених цьому питанню, є менш переконливими. Наприклад, деякі дослідження не змогли довести статистично значущого покращення виживаності без прогресування при додаванні НІРЕС до вторинної циторедуктивної хірургії у пацієнток з платино-чутливим рецидивом [295]. Водночас, інші дослідження демонструють покращення загальної виживаності в цій групі. Суперечливість даних пояснюється різними факторами, включаючи неоднорідність пацієнтських когорт, використання різних хіміопрепаратів та протоколів НІРЕС, а також відсутність великих рандомізованих досліджень, що могли б остаточно вирішити це питання. Через це, використання НІРЕС при

рецидивному раку яєчника поки що розглядається як індивідуалізований підхід, а не як стандарт лікування [296].

НІРЕС є складною процедурою, що несе певні ризики. Хоча дослідження, як-то ОVNІРЕС, показали, що НІРЕС не призводить до значного збільшення післяопераційних ускладнень у порівнянні з циторедуктивними операціями, частота ускладнень 3-4 ступеня (за шкалою Clavien-Dindo) все ж може бути вищою в групі НІРЕС. Найпоширеніші ускладнення включають інфекції, гастроінтестинальні проблеми та гематологічну токсичність (особливо при використанні цисплатину) [297].

Що стосується якості життя, ранні післяопераційні періоди можуть супроводжуватися її зниженням через обсяг хірургічного втручання та вплив НІРЕС. Однак, дослідження демонструють, що якість життя пацієток з часом відновлюється до базового рівня або навіть покращується, особливо у тих, хто отримує значну користь від лікування. Важливо, що тривале покращення загальної виживаності, яке забезпечує НІРЕС, переважає тимчасове погіршення якості життя в післяопераційному періоді [298].

Вивчення ролі *BRCA*-статусу у пацієток з раком яєчника може змінити підхід до НІРЕС. Як відомо, пухлини з мутаціями *BRCA1/2* характеризуються дефіцитом гомологічної рекомбінації та підвищеною чутливістю до препаратів платини, які є ключовими у схемах НІРЕС (найчастіше використовується цисплатин). З наявної літератури відомо, що пацієтки з *BRCA1/2*-диким типом можуть отримувати більше користі від НІРЕС порівняно з носіями мутацій, що базується на результатах фази III дослідження ОVNІРЕС-1 [299]. У цьому дослідженні було проаналізовано вплив НІРЕС у пацієнтів з раком яєчників стадії III, стратифікованих за статусом дефіциту гомологічної рекомбінації та *BRCA*. Результати показали, що найбільшу користь від НІРЕС отримали пацієнти з дефіцитом гомологічної рекомбінації-позитивними пухлинами без мутацій *BRCA1/2* (HR 0.44; 99% CI 0.21–0.91),

тоді як у пацієток з мутаціями *BRCA1/2* ефект був відсутній (HR 1.25; 99% CI 0.48–3.29). Таким чином, хоча *BRCA1/2*-мутації зазвичай асоціюються з підвищеною чутливістю до платинових препаратів, у випадку HIPEC найбільшу користь спостерігали у пацієнтів з дефіцитом гомологічної рекомбінації -позитивними, але *BRCA*-дикими пухлинами. Це може бути пов'язано з тим, що гіпертермія під час HIPEC може впливати на функцію білків *BRCA1/2*, знижуючи ефективність лікування у пацієнтів з мутаціями в цих генах. Іншим поясненням цьому парадоксу може бути, що пацієнтки з *BRCA*-мутаціями вже мають вкрай високу чутливість до системної хіміотерапії на основі платини, що часто призводить до тривалого періоду без прогресування. Можливо, додатковий локальний вплив HIPEC не надає значного додаткового переваги над цим вихідним сприятливим прогнозом [300]. Тобто HIPEC може бути менш ефективним у групі, яка вже має найкращий прогноз.

Дані клінічних спостережень також свідчать, що пацієнтки з *BRCA*-мутаціями можуть мати кращу відповідь на внутрішньочеревне введення платинових препаратів у режимі HIPEC у порівнянні з *BRCA*-негативними пацієнтками. Зокрема, роботи van Driel et al. (2018) показали, що HIPEC у поєднанні з оптимальною циторедукцією подовжує безрецидивну виживаність у хворих з рецидивним РЯ [301]. Подальші аналізи вказують, що підгрупа пацієток із мутаціями *BRCA* демонструє кращі результати від HIPEC за рахунок синергії платинової чутливості та локального ефекту препарату [302].

Можна припустити, що для пацієток з мутаціями *BRCA* потрібен довший період спостереження, щоб оцінити потенційний відкладений ефект HIPEC. Оскільки ці пацієнтки мають значно довшу виживаність, ніж їхні пацієнтки з *BRCA*-диким типом, поточні терміни спостереження можуть бути недостатніми для виявлення статистично значущої різниці.

Тим не менш, роль *BRCA*-статусу у визначенні ефективності *HIPEC* залишається предметом досліджень. У ретроспективному аналізі Ghirardi et al. було показано, що застосування *HIPEC* у пацієток із поширеним раком яєчників може мати перевагу у *BRCA* дикого типу, адже локальна інтенсифікація терапії частково компенсує їхню нижчу чутливість до хіміопрепаратів порівняно з пацієтками-носіями *BRCA*-мутацій. Саме гіпертермія може посилювати цитотоксичний ефект хіміопрепаратів, інгібуючи функцію білків *BRCA1/2* та інших механізмів репарації ДНК [300]. Це свідчить про потенційне покращення результатів лікування незалежно від генетичної підгрупи.

Дані літератури співпадають з результатами представленими у даній роботі, де наявність соматичних мутацій гену *BRCA1* асоційована з вищою чутливістю до гіпертермічної внутрішньочеревної хіміотерапії та кращим загальним виживанням хворих після проведення повної циторедукції (CC-0).

Таким чином, *BRCA1*-мутації асоціюються з підвищеною хіміочутливістю та кращими онкологічними результатами, тоді як у *BRCA*-негативних пацієток *HIPEC* може компенсувати цей недолік. Подальші проспективні рандомізовані дослідження із стратифікацією за *BRCA/HRD*-статусом є критично необхідними для визначення ролі *HIPEC* у персоналізованому лікуванні раку яєчників.

ВИСНОВКИ

1. У результаті проведеного дослідження встановлено, що BRCA1-статус пухлини має важливе значення для прогнозування відповіді на платиновмісну хіміотерапію в режимі HIPEC. Наявність соматичних або гермінальних мутацій гена BRCA1 асоціюється з вищою чутливістю пухлини до HIPEC у поєднанні з системною платиновмісною терапією, а також із кращими показниками загального виживання у пацієток після виконання повної циторедукції (CC-0).
2. При оцінці зв'язку між рівнем TNF у плазмі крові та відповіддю на платиновмісну хіміотерапію встановлено, що плазмовий рівень TNF не має самостійного прогностичного значення щодо чутливості раку яєчників ані до платиновмісної терапії, як до внутрішньочеревної гіпертермічної хіміотерапії, так і системної. Таким чином, TNF не може розглядатися як ізольований предиктивний маркер для селекції лікування пацієнтів в режимі HIPEC.
3. У ході дослідження зв'язку між рівнем експресії miR-200a та miR-200c у плазмі крові і традиційними факторами прогнозу при раку яєчників встановлено, що достовірної асоціації між рівнями цих мікроРНК та стадією захворювання або морфологічним варіантом пухлини не виявлено.
4. Дослідження впливу плазмових рівнів miR-200a та miR-200c на чутливість до платиновмісної терапії показало, що висока експресія обох мікроРНК асоціюється з вищою чутливістю раку яєчників до внутрішньочеревної гіпертермічної хіміоперфузії, а підвищення рівня miR-200c пов'язане також із кращою відповіддю на системну платиновмісну хіміотерапію. Таким чином, мікроРНК родини miR-200, особливо miR-200c, можуть розглядатися як

- перспективні молекулярні предиктори ефективності платиновмісного лікування, у тому числі при застосуванні НІРЕС.
5. При аналізі взаємозв'язків між рівнем експресії мікроРНК, *BRCA1*-статусом пухлини та плазмовими рівнями TNF не встановлено статистично достовірних кореляцій між цими показниками.
 6. Аналіз виживаності пацієток дозволив встановити прогностичну роль miR-200c як молекулярного маркера, асоційованого з тривалішим виживанням хворих на рак яєчників. Зокрема, підвищений рівень експресії miR-200c може розглядатися як потенційний біомаркер сприятливого прогнозу, у тому числі щодо довготривалого виживання понад 8 років.
 7. Сукупність отриманих результатів дає підстави рекомендувати включення *BRCA1*-статусу, рівнів miR-200a/miR-200c разом з клінічними показниками до критеріїв селекції пацієток для проведення внутрішньочеревної хіміотерапії в гіпертермічному режимі.
 8. Нами запропоновано наступний алгоритм селекції пацієток з рецидивним раком яєчників для комбінованого протирецидивного лікування з включенням циторедукції та хіміотерапії в режимі НІРЕС, а саме оцінку PCI та прогнозування можливості досягнення CC0–CC1 перед операцією, визначення *BRCA1*-статусу пухлини та визначення рівня експресії miR-200c і miR-200a в сироватці крові.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Враховуючи отримані результати, доцільно рекомендувати включення оцінки рівня експресії miR-200c у плазмі крові та визначення *BRCA1*-статусу пухлини пацієнток із РЯ як додаткового прогностичного маркера при плануванні хіміотерапії з використанням платинових препаратів, зокрема перед проведенням НІРЕС.

Пропонований алгоритм для клінічної практики (Рис. 3.6.5):

1. Оцінка РСІ та прогнозування можливості досягнення СС0–СС1 перед операцією.
2. Забір крові до початку лікування раку яєчників з інтактною вени. Визначення рівня експресії miR-200c методом PCR-RT.
3. Використання miR-200c як прогностичного маркера у пацієнток з раком яєчників.
4. Визначення *BRCA1*-статусу для оцінки прогнозованої ефективності НІРЕС.
5. Прогнозування ефективності НІРЕС та ризику хіміорезистентності на основі miR-200c і *BRCA1*-статусу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Huang J, Chan WC, Ngai CH, Lok V, Zhang L, Lucero-Prisno DE, et al. Worldwide Burden, Risk Factors, and Temporal Trends of Ovarian Cancer: A Global Study. *Cancers*. 01, Травень 2022;14(9). doi:10.3390/cancers14092230
2. World Cancer Research Fund [Інтернет]. [цит. за 16, Лютий 2025]. Ovarian cancer statistics. Доступний у: <https://www.wcrf.org/preventing-cancer/cancer-statistics/ovarian-cancer-statistics/>
3. Z. F, Sumkina O, Gorokh Y, Ryzhov A, Goulak L. ОНКОЕПІДЕМІОЛОГІЧНА СИТУАЦІЯ ТА СТАН ОРГАНІЗАЦІЇ ОНКОЛОГІЧНОЇ ДОПОМОГИ В УКРАЇНІ, 2020-2021 рр. В. 2022. с. 4–17.
4. Reid BM, Permeth JB, Sellers TA. Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer Biol Med*. 01, Березень 2017;14(1):9–32. doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0084
5. Ushijima K. Treatment for recurrent ovarian cancer-at first relapse. *J Oncol*. 2010;2010:497429. doi:10.1155/2010/497429 PubMed PMID: 20066162; PubMed Central PMCID: PMC2801501.
6. Gadducci A, Cosio S. Surveillance of patients after initial treatment of ovarian cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. Липень 2009;71(1):43–52. doi:10.1016/j.critrevonc.2008.12.008
7. Rose PG. Ovarian cancer recurrence: is the definition of platinum sensitivity modified by PARPi, bevacizumab or other intervening treatments? : a clinical perspective. *Cancer Drug Resist*. 12, Травень 2022;5(2):415–23. doi:10.20517/cdr.2022.01 PubMed PMID: 35800381; PubMed Central PMCID: PMC9255234.

8. Incorporation of Bevacizumab in the Primary Treatment of Ovarian Cancer | *New England Journal of Medicine* [Интернет]. [цит. за 16, Лютий 2025].
Доступний у: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1104390>
9. Vasan N, Baselga J, Hyman DM. A view on drug resistance in cancer. *Nature*.
Листопад 2019;575(7782):7782. doi:10.1038/s41586-019-1730-1
10. Sugarbaker PH. Management of peritoneal-surface malignancy: the surgeon's
role. *Langenbecks Arch Surg*. Грудень 1999;384(6):576–87.
doi:10.1007/s004230050246 PubMed PMID: 10654274.
11. Creugny A, Fender A, Pfeffer S. Regulation of primary microRNA processing.
FEBS Lett. 01, Червень 2018;592(12):1980–96. doi:10.1002/1873-
3468.13067 PubMed PMID: 29683487.
12. Ferneza S, Fetsych M, Shuliak R, Makukh H, Volodko N, Yarema R, et al.
Clinical significance of microRNA-200 and let-7 families expression
assessment in patients with ovarian cancer. *ecancermedicalscience*. 01,
Червень 2021;15. doi:10.3332/ECANCER.2021.1249
13. Poveda A, Floquet A, Ledermann JA, Asher R, Penson RT, Oza AM, et al.
Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive
relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21): a
final analysis of a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial.
Lancet Oncol. Травень 2021;22(5):620–31. doi:10.1016/S1470-
2045(21)00073-5 PubMed PMID: 33743851.
14. Cavallari I, Ciccarese F, Sharova E, Urso L, Raimondi V, Silic-Benussi M, et
al. The miR-200 Family of microRNAs: Fine Tuners of Epithelial-
Mesenchymal Transition and Circulating Cancer Biomarkers. *Cancers*. 23,
Листопад 2021;13(23):5874. doi:10.3390/cancers13235874 PubMed PMID:
34884985; PubMed Central PMCID: PMC8656820.

15. Momenimovahed Z, Tiznobaik A, Taheri S, Salehiniya H. Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors. *Int J Womens Health*. 30, Квітень 2019;11:287–99. doi:10.2147/IJWH.S197604 PubMed PMID: 31118829; PubMed Central PMCID: PMC6500433.
16. F B, M C, L M, M P, A Z, R Z, et al. Cancer Incidence in Five Continents Volume XI [Інтернет]. [цит. за 28, Серпень 2023]. Доступний у: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Scientific-Publications/Cancer-Incidence-In-Five-Continents%20Volume-XI-2021>
17. Gynecologic Cancer Incidence, United States—2012–2016 | CDC [Інтернет]. 2023 [цит. за 29, Серпень 2023]. Доступний у: <https://www.cdc.gov/cancer/uscs/about/data-briefs/no11-gynecologic-cancer-incidence-UnitedStates-2012-2016.htm>
18. ESMO. Death Rates from Ovarian Cancer will Fall in the EU and UK in 2022 [Annals of Oncology Press Release] [Інтернет]. [цит. за 29, Серпень 2023]. Доступний у: <https://www.esmo.org/newsroom/press-releases/death-rates-from-ovarian-cancer-will-fall-in-the-eu-and-uk-in-2022>
19. ОНКОЕПІДЕМІОЛОГІЧНА СИТУАЦІЯ ТА СТАН ОРГАНІЗАЦІЇ ОНКОЛОГІЧНОЇ ДОПОМОГИ В УКРАЇНІ, 2019-2020 рр..pdf [Інтернет]. [цит. за 28, Серпень 2023]. Доступний у: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_22/PDF/03-08-vstup.pdf
20. Menon U, Gentry-Maharaj A, Burnell M, Singh N, Ryan A, Karpinskyj C, et al. Ovarian cancer population screening and mortality after long-term follow-up in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. *The Lancet*. 2021;397(10290). doi:10.1016/S0140-6736(21)00731-5

21. The efficiency of CT at pre-operative evaluation stage of PCI in patients with recurrent ovarian cancer. *Int J Radiol Radiat Ther.* 30, Серпень 2017;Volume 4(Issue 2). doi:10.15406/ijrrt.2017.04.00092
22. RJ K, ML C, CS H, RH Y. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs [Інтернет]. [цит. за 02, Листопад 2023]. Доступний у: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/WHO-Classification-Of-Tumours-Of-Female-Reproductive-Organs-2014>
23. Prat J. Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features. *Virchows Arch.* 01, Березень 2012;460(3):237–49. doi:10.1007/s00428-012-1203-5
24. Reitsma W, de Bock GH, Oosterwijk JC, Bart J, Hollema H, Mourits MJE. Support of the «fallopian tube hypothesis» in a prospective series of risk-reducing salpingo-oophorectomy specimens. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. Січень 2013;49(1):132–41. doi:10.1016/j.ejca.2012.07.021 PubMed PMID: 22921157.
25. Sherman ME, Piedmonte M, Mai PL, Ioffe OB, Ronnett BM, Van Le L, et al. Pathologic findings at risk-reducing salpingo-oophorectomy: primary results from Gynecologic Oncology Group Trial GOG-0199. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10, Жовтень 2014;32(29):3275–83. doi:10.1200/JCO.2013.54.1987 PubMed PMID: 25199754; PubMed Central PMCID: PMC4178524.
26. Kim S, Han Y, Kim SI, Kim HS, Kim SJ, Song YS. Tumor evolution and chemoresistance in ovarian cancer. *Npj Precis Oncol.* Грудень 2018;2(1). doi:10.1038/s41698-018-0063-0
27. Pradeep S, Kim SW, Wu SY, Nishimura M, Chaluvally-Raghavan P, Miyake T, et al. Hematogenous metastasis of ovarian cancer: rethinking mode of

- spread. *Cancer Cell*. 14, Липень 2014;26(1):77–91.
doi:10.1016/j.ccr.2014.05.002 PubMed PMID: 25026212; PubMed Central
PMCID: PMC4100212.
28. Meetze K, Vincent S, Tyler S, Mazsa EK, Delpero AR, Bottega S, et al. Neuregulin 1 expression is a predictive biomarker for response to AV-203, an ERBB3 inhibitory antibody, in human tumor models. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 01, Березень 2015;21(5):1106–14. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-2407 PubMed PMID: 25542901.
29. Kurman RJ, Shih IM. The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer: A proposed unifying theory. *Am J Surg Pathol*. Березень 2010;34(3):433–43. doi:10.1097/PAS.0b013e3181cf3d79
30. Bell D, Berchuck A, Birrer M, Chien J, Cramer DW, Dao F, et al. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*. 30, Червень 2011;474(7353):609–15. doi:10.1038/nature10166 PubMed PMID: 21720365.
31. Hollis RL, Gourley C. Genetic and molecular changes in ovarian cancer. *Cancer Biol Med*. 01, Червень 2016;13(2):236–47. doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0024 PubMed PMID: 27458531.
32. Shaw PA, Rouzbahman M, Pizer ES, Pintilie M, Begley H. Candidate serous cancer precursors in fallopian tube epithelium of BRCA1/2 mutation carriers. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. Вересень 2009;22(9):1133–8. doi:10.1038/modpathol.2009.89 PubMed PMID: 19543244.
33. Primary Fallopian Tube Malignancies in BRCA -Positive Women Undergoing Surgery for Ovarian Cancer Risk Reduction [Интернет]. [цит. за 09, Листопад 2023]. Доступний у: <https://oc.e.ovid.com/article/00005083-200725250-00031>

34. Finch A, Shaw P, Rosen B, Murphy J, Narod SA, Colgan TJ. Clinical and pathologic findings of prophylactic salpingo-oophorectomies in 159 BRCA1 and BRCA2 carriers. *Gynecol Oncol*. Січень 2006;100(1):58–64. doi:10.1016/j.ygyno.2005.06.065 PubMed PMID: 16137750.
35. Rosenblatt KA, Thomas DB. Reduced risk of ovarian cancer in women with a tubal ligation or hysterectomy. The World Health Organization Collaborative Study of Neoplasia and Steroid Contraceptives. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol*. Листопад 1996;5(11):933–5. PubMed PMID: 8922304.
36. Armstrong DK, Alvarez RD, Backes FJ, Bakkum-Gamez JN, Barroilhet L, Behbakht K, et al. NCCN Guidelines® Insights: Ovarian Cancer, Version 3.2022: Featured Updates to the NCCN Guidelines. *J Natl Compr Canc Netw*. 01, Вересень 2022;20(9):972–80. doi:10.6004/jnccn.2022.0047
37. Gene variants | Target Ovarian Cancer [Інтернет]. [цит. за 13, Листопад 2023]. Доступний у: <https://targetovariancancer.org.uk/about-ovarian-cancer/genetic-genomic-testing/hereditary-ovarian-cancer/gene-variants>
38. Guo T, Dong X, Xie S, Zhang L, Zeng P, Zhang L. Cellular Mechanism of Gene Mutations and Potential Therapeutic Targets in Ovarian Cancer. *Cancer Manag Res*. 08, Квітень 2021;13:3081–100. doi:10.2147/CMAR.S292992
39. Claussen C, Rody A, Hanker L. Treatment of Recurrent Epithelial Ovarian Cancer. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. Грудень 2020;80(12):1195–204. doi:10.1055/a-1128-0280 PubMed PMID: 33293727; PubMed Central PMCID: PMC7714556.
40. Hu J, Cao J, Topatana W, Juengpanich S, Li S, Zhang B, et al. Targeting mutant p53 for cancer therapy: direct and indirect strategies. *J Hematol Oncol*

Hematol Oncol. 28, Вересень 2021;14(1):157. doi:10.1186/s13045-021-01169-0

41. Zhang Y, Cao L, Nguyen D, Lu H. TP53 mutations in epithelial ovarian cancer. *Transl Cancer Res.* Грудень 2016;5(6):650–63. doi:10.21037/tcr.2016.08.40 PubMed PMID: 30613473; PubMed Central PMCID: PMC6320227.
42. Walsh CS. Two decades beyond BRCA1/2: Homologous recombination, hereditary cancer risk and a target for ovarian cancer therapy. *Gynecol Oncol.* 01, Травень 2015;137(2):343–50. doi:10.1016/j.ygyno.2015.02.017
43. Farmer H, McCabe N, Lord CJ, Tutt ANJ, Johnson DA, Richardson TB, et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature.* Квітень 2005;434(7035):7035. doi:10.1038/nature03445
44. Hrytsay I, Mazur Y, Ferneza S, Sulaieva O, Volodko N. IMPLEMENTATION OF MOLECULAR PROFILING IN THE DIAGNOSIS AND TREATMENT PLANNING OF PATIENTS WITH ADVANCED OVARIAN CANCER. *Proceeding Shevchenko Sci Soc Med Sci.* 28, Червень 2024;73(1):1. doi:10.25040/ntsh2024.01.13
45. Yang SL, Si LH, Lin RX, Gu SY, Li JH, Cui JZ, et al. Prognostic role of the peritoneal cancer index in ovarian cancer patients who undergo cytoreductive surgery: a meta-analysis. *Curr Probl Cancer.* 01, Грудень 2023;47(6):101014. doi:10.1016/j.currproblcancer.2023.101014
46. Jónsdóttir B, Lomnytska M, Poromaa IS, Silins I, Ståhlberg K. The Peritoneal Cancer Index is a Strong Predictor of Incomplete Cytoreductive Surgery in Ovarian Cancer. *Ann Surg Oncol.* Січень 2021;28(1):244–51. doi:10.1245/s10434-020-08649-6 PubMed PMID: 32472412; PubMed Central PMCID: PMC7752870.

47. Frederick PJ, Ramirez PT, McQuinn L, Milam MR, Weber DM, Coleman RL, et al. Preoperative Factors Predicting Survival After Secondary Cytoreduction for Recurrent Ovarian Cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 01, Липень 2011;21(5):831–6. doi:10.1097/IGC.0b013e31821743f9
48. Piver MS. Ovarian carcinoma: A decade of progress. *Cancer*. 1984;54(S2):2706–15. doi:10.1002/1097-0142(19841201)54:2+%3C2706::AID-CNCR2820541417%3E3.0.CO;2-L
49. Monk BJ, Randall LM, Grisham RN. The Evolving Landscape of Chemotherapy in Newly Diagnosed Advanced Epithelial Ovarian Cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. Травень 2019;(39):e141–51. doi:10.1200/EDBK_239007
50. McGuire WP, Hoskins WJ, Brady MF, Kucera PR, Partridge EE, Look KY, et al. Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer. *N Engl J Med*. 04, Січень 1996;334(1):1–6. doi:10.1056/NEJM199601043340101
51. Garzon S, Laganà AS, Casarin J, Raffaelli R, Cromi A, Franchi M, et al. Secondary and tertiary ovarian cancer recurrence: what is the best management? *Gland Surg*. Серпень 2020;9(4):1118–29. doi:10.21037/gs-20-325 PubMed PMID: 32953627; PubMed Central PMCID: PMC7475365.
52. Vargas-Hernández VM, Moreno-Eutimio MA, Acosta-Altamirano G, Vargas-Aguilar VM. Management of recurrent epithelial ovarian cancer. *Gland Surg*. Серпень 2014;3(3):198–202. doi:10.3978/j.issn.2227-684X.2013.10.01 PubMed PMID: 25207212; PubMed Central PMCID: PMC4139130.
53. Markman M, Hoskins W. Responses to salvage chemotherapy in ovarian cancer: a critical need for precise definitions of the treated population. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. Квітень 1992;10(4):513–4. doi:10.1200/JCO.1992.10.4.513 PubMed PMID: 1548513.

54. Eisenhauer EA, Vermorken JB, van Glabbeke M. Predictors of response to subsequent chemotherapy in platinum pretreated ovarian cancer: a multivariate analysis of 704 patients [seecomments]. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. ЖОВТЕНЬ 1997;8(10):963–8. doi:10.1023/a:1008240421028 PubMed PMID: 9402168.
55. Pignata S, Scambia G, Bologna A, Signoriello S, Vergote IB, Wagner U, et al. Randomized Controlled Trial Testing the Efficacy of Platinum-Free Interval Prolongation in Advanced Ovarian Cancer: The MITO-8, MaNGO, BGOG-Ov1, AGO-Ovar2.16, ENGOT-Ov1, GCIG Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10, ЖОВТЕНЬ 2017;35(29):3347–53. doi:10.1200/JCO.2017.73.4293 PubMed PMID: 28825853.
56. Colombo N, Gadducci A, Sehouli J, Biagioli E, Nyvang GB, Riniker S, et al. LBA30 INOVATYON study: Randomized phase III international study comparing trabectedin/PLD followed by platinum at progression vs carboplatin/PLD in patients with recurrent ovarian cancer progressing within 6-12 months after last platinum line. *Ann Oncol*. 01, Вересень 2020;31:S1161. doi:10.1016/j.annonc.2020.08.2260
57. Marth C, Abreu MH, Andersen KK, Aro KM, de Lurdes Batarda M, Boll D, et al. Real-life data on treatment and outcomes in advanced ovarian cancer: An observational, multinational cohort study (RESPONSE trial). *Cancer*. 15, Серпень 2022;128(16):3080–9. doi:10.1002/cncr.34350 PubMed PMID: 35714310; PubMed Central PMCID: PMC9545328.
58. Aghajanian C, Goff B, Nycum LR, Wang YV, Husain A, Blank SV. Final overall survival and safety analysis of OCEANS, a phase 3 trial of chemotherapy with or without bevacizumab in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. ЖОВТЕНЬ 2015;139(1):10–6. doi:10.1016/j.ygyno.2015.08.004 PubMed PMID: 26271155; PubMed Central PMCID: PMC4993045.

59. Coleman RL, Enserro D, Spirtos N, Herzog TJ, Sabbatini P, Armstrong DK, et al. A phase III randomized controlled trial of secondary surgical cytoreduction (SSC) followed by platinum-based combination chemotherapy (PBC), with or without bevacizumab (B) in platinum-sensitive, recurrent ovarian cancer (PSOC): A NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group (GOG) study. *J Clin Oncol*. 20, Травень 2018;36(15_suppl):5501–5501. doi:10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.5501
60. Pignata S, Lorusso D, Joly F, Gallo C, Colombo N, Sessa C, et al. Chemotherapy plus or minus bevacizumab for platinum-sensitive ovarian cancer patients recurring after a bevacizumab containing first line treatment: The randomized phase 3 trial MITO16B-MaNGO OV2B-ENGOT OV17. *J Clin Oncol*. 20, Травень 2018;36(15_suppl):5506–5506. doi:10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.5506
61. Colombo N, Sessa C, Bois A du, Ledermann J, McCluggage WG, McNeish I, et al. ESMO-ESGO consensus conference recommendations on ovarian cancer: pathology and molecular biology, early and advanced stages, borderline tumours and recurrent disease. *Int J Gynecol Cancer Off J Int Gynecol Cancer Soc*. 02, Травень 2019;ijgc–2019–000308. doi:10.1136/ijgc-2019-000308 PubMed PMID: 31048403.
62. Ledermann J, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, et al. Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer. *N Engl J Med*. 12, Квітень 2012;366(15):1382–92. doi:10.1056/NEJMoa1105535 PubMed PMID: 22452356.
63. Ledermann J, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol*. Липень

2014;15(8):852–61. doi:10.1016/S1470-2045(14)70228-1 PubMed PMID: 24882434.

64. Poveda A, Floquet A, Ledermann JA, Asher R, Penson RT, Oza AM, et al. Final overall survival (OS) results from SOLO2/ENGOT-ov21: A phase III trial assessing maintenance olaparib in patients (pts) with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA mutation. *J Clin Oncol.* 20, Травень 2020;38(15_suppl):6002–6002. doi:10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.6002
65. Penson R, Valencia RV, Colombo N, Leath C, Bidzinski M, Kim JW, et al. Final overall survival results from SOLO3: Phase III trial assessing olaparib monotherapy versus non-platinum chemotherapy in heavily pretreated patients with germline BRCA1 - and/or BRCA2-mutated platinum-sensitive relapsed ovarian cancer (026). *Gynecol Oncol.* 01, Серпень 2022; Abstracts of the 2022 Society of Gynecologic Oncology Annual Meeting 166:S19–20. doi:10.1016/S0090-8258(22)01244-6
66. Mirza MR, Monk BJ, Herrstedt J, Oza AM, Mahner S, Redondo A, et al. Niraparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive, Recurrent Ovarian Cancer. *N Engl J Med.* 01, Грудень 2016;375(22):2154–64. doi:10.1056/NEJMoa1611310 PubMed PMID: 27717299.
67. Moore KN, Secord AA, Geller MA, Miller DS, Cloven N, Fleming GF, et al. Niraparib monotherapy for late-line treatment of ovarian cancer (QUADRA): a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* Травень 2019;20(5):636–48. doi:10.1016/S1470-2045(19)30029-4 PubMed PMID: 30948273.
68. Swisher EM, Lin KK, Oza AM, Scott CL, Giordano H, Sun J, et al. Rucaparib in relapsed, platinum-sensitive high-grade ovarian carcinoma (ARIEL2 Part 1): an international, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.*

Січень 2017;18(1):75–87. doi:10.1016/S1470-2045(16)30559-9 PubMed PMID: 27908594.

69. Kristeleit RS, Shapira-Frommer R, Oaknin A, Balmaña J, Ray-Coquard IL, Domchek S, et al. Clinical activity of the poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor rucaparib in patients (pts) with high-grade ovarian carcinoma (HGOC) and a BRCA mutation (BRCAmut): Analysis of pooled data from Study 10 (parts 1, 2a, and 3) and ARIEL2 (parts 1 and 2). *Ann Oncol*. 01, ЖОВТЕНЬ 2016;27:vi296. doi:10.1093/annonc/mdw374.03
70. Coleman RL, Oza AM, Lorusso D, Aghajanian C, Oaknin A, Dean A, et al. Rucaparib maintenance treatment for recurrent ovarian carcinoma after response to platinum therapy (ARIEL3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Lond Engl*. 28, ЖОВТЕНЬ 2017;390(10106):1949–61. doi:10.1016/S0140-6736(17)32440-6 PubMed PMID: 28916367; PubMed Central PMCID: PMC5901715.
71. Armstrong DK, Bundy B, Wenzel L, Huang HQ, Baergen R, Lele S, et al. Intraperitoneal Cisplatin and Paclitaxel in Ovarian Cancer. *N Engl J Med*. 05, Січень 2006;354(1):34–43. doi:10.1056/NEJMoa052985 PubMed PMID: 16394300.
72. Mishra M, Singh N, Ghatage P. Past, Present, and Future of Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy (HIPEC) in Ovarian Cancer. *Cureus*. 13(6):e15563. doi:10.7759/cureus.15563 PubMed PMID: 34277186; PubMed Central PMCID: PMC8272440.
73. Colombo N, Sessa C, du Bois A, Ledermann J, McCluggage WG, McNeish I, et al. ESMO-ESGO consensus conference recommendations on ovarian cancer: pathology and molecular biology, early and advanced stages, borderline tumours and recurrent disease†. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med*

Oncol. 01, Травень 2019;30(5):672–705. doi:10.1093/annonc/mdz062
PubMed PMID: 31046081.

74. Armstrong DK, Alvarez RD, Bakkum-Gamez JN, Barroilhet L, Behbakht K, Berchuck A, et al. NCCN Guidelines Insights: Ovarian Cancer, Version 1.2019. J Natl Compr Cancer Netw JNCCN. 01, Серпень 2019;17(8):896–909. doi:10.6004/jnccn.2019.0039 PubMed PMID: 31390583.
75. Lei Z, Wang Y, Wang J, Wang K, Tian J, Zhao Y, et al. Evaluation of Cytoreductive Surgery With or Without Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy for Stage III Epithelial Ovarian Cancer. JAMA Netw Open. 25, Серпень 2020;3(8):e2013940. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.13940 PubMed PMID: 32840622; PubMed Central PMCID: PMC7448829.
76. Stenger M. OVHIPEC-1 Trial: Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy Plus Interval Cytoreductive Surgery Improves Survival in Advanced Ovarian Cancer [Інтернет]. [цит. за 30, Грудень 2024]. Доступний у:
<https://ascopost.com/issues/january-25-2024/ovhipec-1-trial-hyperthermic-intraperitoneal-chemotherapy-plus-interval-cytoreductive-surgery-improves-survival-in-advanced-ovarian-cancer/>
77. HIPEC в комбінованому лікуванні інтраперитонеально дисемінованого раку: моноцентровий досвід проведення 215 операцій [Інтернет]. [цит. за 30, Грудень 2024]. Доступний у:
<https://www.clinicaloncology.com.ua/article/27758/hipec-v-kombinovanomu-likuvanni-intraperitonealno-diseminovanogo-raku-monocentrovij-dosvid-provedennya-215-operacij>
78. Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) for persistent and recurrent advanced ovarian carcinoma: a multicenter, prospective study of 246 patients - PubMed [Інтернет]. [цит. за

- 21, Березень 2025]. Доступний у:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22825772/>
79. Le Brun JF, Campion L, Berton-Rigaud D, Lorimier G, Marchal F, Ferron G, et al. Survival benefit of hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for recurrent ovarian cancer: a multi-institutional case control study. *Ann Surg Oncol.* ЖОВТЕНЬ 2014;21(11):3621–7. doi:10.1245/s10434-014-3693-7 PubMed PMID: 24819120.
80. Safra T, Grisar D, Inbar M, Abu-Abeid S, Dayan D, Matceyevsky D, et al. Cytoreduction surgery with hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in recurrent ovarian cancer improves progression-free survival, especially in BRCA-positive patients- a case-control study. *J Surg Oncol.* Листопад 2014;110(6):661–5. doi:10.1002/jso.23688 PubMed PMID: 24962381.
81. Randomized trial of hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) in women with primary advanced peritoneal, ovarian, and tubal cancer. | *Journal of Clinical Oncology* [Інтернет]. [цит. за 21, Березень 2025]. Доступний у: https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.5520
82. Farber S, Diamond LK. Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroyl-glutamic acid. *N Engl J Med.* 03, Червень 1948;238(23):787–93. doi:10.1056/NEJM194806032382301 PubMed PMID: 18860765.
83. Goodman LS, Wintrobe MM. Nitrogen mustard therapy; use of methyl-bis (beta-chloroethyl) amine hydrochloride and tris (beta-chloroethyl) amine hydrochloride for Hodgkin's disease, lymphosarcoma, leukemia and certain allied and miscellaneous disorders. *J Am Med Assoc.* 21, Вересень 1946;132:126–32. doi:10.1001/jama.1946.02870380008004 PubMed PMID: 20997191.

84. Goldie JH, Coldman AJ. A mathematic model for relating the drug sensitivity of tumors to their spontaneous mutation rate. *Cancer Treat Rep.* 1979;63(11–12):1727–33. PubMed PMID: 526911.
85. Norton L, Simon R, Brereton HD, Bogden AE. Predicting the course of Gompertzian growth. *Nature.* 09, Грудень 1976;264(5586):542–5. doi:10.1038/264542a0 PubMed PMID: 1004590.
86. Laird AK. Dynamics of Tumour Growth. *Br J Cancer.* Вересень 1964;18(3):490–502. PubMed PMID: 14219541; PubMed Central PMCID: PMC2071101.
87. Dagogo-Jack I, Shaw AT. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies. *Nat Rev Clin Oncol.* Лютий 2018;15(2):81–94. doi:10.1038/nrclinonc.2017.166
88. Choi YJ, Rhee JK, Hur SY, Kim MS, Lee SH, Chung YJ, et al. Intraindividual genomic heterogeneity of high-grade serous carcinoma of the ovary and clinical utility of ascitic cancer cells for mutation profiling. *J Pathol.* Січень 2017;241(1):57–66. doi:10.1002/path.4819 PubMed PMID: 27741368.
89. Yin X, Jing Y, Cai MC, Ma P, Zhang Y, Xu C, et al. Clonality, Heterogeneity, and Evolution of Synchronous Bilateral Ovarian Cancer. *Cancer Res.* 30, Листопад 2017;77(23):6551–61. doi:10.1158/0008-5472.CAN-17-1461
90. Sharma P, Hu-Lieskovan S, Wargo JA, Ribas A. Primary, Adaptive, and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy. *Cell.* 09, Лютий 2017;168(4):707–23. doi:10.1016/j.cell.2017.01.017 PubMed PMID: 28187290; PubMed Central PMCID: PMC5391692.
91. Das S, Johnson DB. Immune-related adverse events and anti-tumor efficacy of immune checkpoint inhibitors. *J Immunother Cancer.* 01, Грудень 2019;7(1):306. doi:10.1186/s40425-019-0805-8 PubMed PMID: 31730012.

92. Fitzsimmons TS, Singh N, Walker TDJ, Newton C, Evans DGR, Crosbie EJ, et al. Immune checkpoint inhibitors efficacy across solid cancers and the utility of PD-L1 as a biomarker of response: a systematic review and meta-analysis. *Front Med.* 12, Травень 2023;10. doi:10.3389/fmed.2023.1192762
93. Snyder A, Makarov V, Merghoub T, Yuan J, Zaretsky JM, Desrichard A, et al. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N Engl J Med.* 04, Грудень 2014;371(23):2189–99. doi:10.1056/NEJMoa1406498 PubMed PMID: 25409260; PubMed Central PMCID: PMC4315319.
94. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science.* 03, Квітень 2015;348(6230):124–8. doi:10.1126/science.aaa1348 PubMed PMID: 25765070; PubMed Central PMCID: PMC4993154.
95. Zaretsky JM, Garcia-Diaz A, Shin DS, Escuin-Ordinas H, Hugo W, Hui-Lieskovan S, et al. Mutations Associated with Acquired Resistance to PD-1 Blockade in Melanoma. *N Engl J Med.* 01, Вересень 2016;375(9):819–29. doi:10.1056/NEJMoa1604958 PubMed PMID: 27433843; PubMed Central PMCID: PMC5007206.
96. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SAJR, Behjati S, Biankin AV, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature.* 22, Серпень 2013;500(7463):415–21. doi:10.1038/nature12477 PubMed PMID: 23945592; PubMed Central PMCID: PMC3776390.
97. Glen CD, Dubrova YE. Exposure to anticancer drugs can result in transgenerational genomic instability in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 21, Лютий 2012;109(8):2984–8. doi:10.1073/pnas.1119396109 PubMed PMID: 22308437; PubMed Central PMCID: PMC3286966.

98. Shaked Y. Balancing efficacy of and host immune responses to cancer therapy: the yin and yang effects. *Nat Rev Clin Oncol*. ЖОВТЕНЬ 2016;13(10):611–26. doi:10.1038/nrclinonc.2016.57 PubMed PMID: 27118493.
99. Mu P, Zhang Z, Benelli M, Karthaus WR, Hoover E, Chen CC, et al. SOX2 promotes lineage plasticity and antiandrogen resistance in TP53- and RB1-deficient prostate cancer. *Science*. 06, СІЧЕНЬ 2017;355(6320):84–8. doi:10.1126/science.aah4307 PubMed PMID: 28059768; PubMed Central PMCID: PMC5247742.
100. Oser MG, Niederst MJ, Sequist LV, Engelman JA. Transformation from non-small-cell lung cancer to small-cell lung cancer: molecular drivers and cells of origin. *Lancet Oncol*. КВІТЕНЬ 2015;16(4):e165-172. doi:10.1016/S1470-2045(14)71180-5 PubMed PMID: 25846096; PubMed Central PMCID: PMC4470698.
101. Distinct evolutionary trajectories of primary high-grade serous ovarian cancers revealed through spatial mutational profiling - PubMed [Інтернет]. [цит. за 25, Грудень 2024]. Доступний у: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23780408/>
102. Castellarin M, Milne K, Zeng T, Tse K, Mayo M, Zhao Y, et al. Clonal evolution of high-grade serous ovarian carcinoma from primary to recurrent disease. *J Pathol*. Березень 2013;229(4):515–24. doi:10.1002/path.4105
103. Wheate NJ, Walker S, Craig GE, Oun R. The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials. *Dalton Trans*. 2010;39(35):8113. doi:10.1039/c0dt00292e
104. Lambrechts S, Smeets D, Moisse M, Braicu EI, Vanderstichele A, Zhao H, et al. Genetic heterogeneity after first-line chemotherapy in high-grade serous

- ovarian cancer. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. Січень 2016;53:51–64.
doi:10.1016/j.ejca.2015.11.001 PubMed PMID: 26693899.
105. Zhou J, Kang Y, Chen L, Wang H, Liu J, Zeng S, et al. The Drug-Resistance Mechanisms of Five Platinum-Based Antitumor Agents. *Front Pharmacol.* 20, Березень 2020;11:343. doi:10.3389/fphar.2020.00343 PubMed PMID: 32265714; PubMed Central PMCID: PMC7100275.
106. Zhang C, Xu C, Gao X, Yao Q. Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. *Theranostics.* 07, Лютий 2022;12(5):2115–32.
doi:10.7150/thno.69424 PubMed PMID: 35265202; PubMed Central PMCID: PMC8899578.
107. Patch AM, Christie EL, Etemadmoghadam D, Garsed DW, George J, Fereday S, et al. Whole-genome characterization of chemoresistant ovarian cancer. *Nature.* Травень 2015;521(7553):489–94. doi:10.1038/nature14410
108. Perland E, Fredriksson R. Classification Systems of Secondary Active Transporters. *Trends Pharmacol Sci.* Березень 2017;38(3):305–15.
doi:10.1016/j.tips.2016.11.008 PubMed PMID: 27939446.
109. Zhou F, Zhu L, Wang K, Murray M. Recent advance in the pharmacogenomics of human Solute Carrier Transporters (SLCs) in drug disposition. *Adv Drug Deliv Rev.* 01, Липень 2017;116:21–36.
doi:10.1016/j.addr.2016.06.004 PubMed PMID: 27320645.
110. Gao H, Zhang S, Hu T, Qu X, Zhai J, Zhang Y, et al. Omeprazole protects against cisplatin-induced nephrotoxicity by alleviating oxidative stress, inflammation, and transporter-mediated cisplatin accumulation in rats and HK-2 cells. *Chem Biol Interact.* 05, Січень 2019;297:130–40.
doi:10.1016/j.cbi.2018.11.008 PubMed PMID: 30452898.

111. Bompiani KM, Tsai CY, Achatz FP, Liebig JK, Howell SB. Copper transporters and chaperones CTR1, CTR2, ATOX1, and CCS as determinants of cisplatin sensitivity. *Met Integr Biometal Sci.* 01, Вересень 2016;8(9):951–62. doi:10.1039/c6mt00076b PubMed PMID: 27157188; PubMed Central PMCID: PMC5025354.
112. Akerfeldt MC, Tran CMN, Shen C, Hambley TW, New EJ. Interactions of cisplatin and the copper transporter CTR1 in human colon cancer cells. *J Biol Inorg Chem JBIC Publ Soc Biol Inorg Chem.* Липень 2017;22(5):765–74. doi:10.1007/s00775-017-1467-y PubMed PMID: 28516214.
113. Kim ES, Tang X, Peterson DR, Kilari D, Chow CW, Fujimoto J, et al. Copper Transporter CTR1 Expression and Tissue Platinum Concentration in Non-Small Cell Lung Cancer. *Lung Cancer Amst Neth.* Липень 2014;85(1):88–93. doi:10.1016/j.lungcan.2014.04.005 PubMed PMID: 24792335; PubMed Central PMCID: PMC4090351.
114. Cadoni E, Valletta E, Caddeo G, Isaia F, Cabiddu MG, Vascellari S, et al. Competitive reactions among glutathione, cisplatin and copper-phenanthroline complexes. *J Inorg Biochem.* Серпень 2017;173:126–33. doi:10.1016/j.jinorgbio.2017.05.004 PubMed PMID: 28511063.
115. Rocha CRR, Garcia CCM, Vieira DB, Quinet A, de Andrade-Lima LC, Munford V, et al. Glutathione depletion sensitizes cisplatin- and temozolomide-resistant glioma cells in vitro and in vivo. *Cell Death Dis.* Квітень 2015;6(4):e1727. doi:10.1038/cddis.2015.101 PubMed PMID: 25880094; PubMed Central PMCID: PMC4650535.
116. Tariba B, Živković T, Krasnići N, Marijić VF, Erk M, Gamulin M, et al. Serum metallothionein in patients with testicular cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* Квітень 2015;75(4):813–20. doi:10.1007/s00280-015-2702-2 PubMed PMID: 25700685.

117. Zinc chelation: a metallothionein 2A's mechanism of action involved in osteosarcoma cell death and chemotherapy resistance - PMC [Интернет]. [цит. за 11, Січень 2024]. Доступний у: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3920934/>
118. Pekarik V, Gumulec J, Masarik M, Kizek R, Adam V. Prostate cancer, miRNAs, metallothioneins and resistance to cytostatic drugs. *Curr Med Chem.* 2013;20(4):534–44. doi:10.2174/0929867311320040005 PubMed PMID: 23157640.
119. Sullivan I, Salazar J, Majem M, Pallarés C, Del Río E, Páez D, et al. Pharmacogenetics of the DNA repair pathways in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Cancer Lett.* 28, ЖОВТЕНЬ 2014;353(2):160–6. doi:10.1016/j.canlet.2014.07.023 PubMed PMID: 25069034.
120. Oxaliplatin-Based Chemotherapy in Advanced Neuroendocrine Tumors: Clinical Outcomes and Preliminary Correlation with Biological Factors - PubMed [Интернет]. [цит. за 14, Січень 2024]. Доступний у: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26789262/>
121. Higher expression of XPF is a critical factor in intrinsic chemotherapy resistance of human renal cell carcinoma - Zhang - 2016 - International Journal of Cancer - Wiley Online Library [Интернет]. [цит. за 14, Січень 2024]. Доступний у: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.30396>
122. Guillemette S, Serra RW, Peng M, Hayes JA, Konstantinopoulos PA, Green MR, et al. Resistance to therapy in BRCA2 mutant cells due to loss of the nucleosome remodeling factor CHD4. *Genes Dev.* 01, Березень 2015;29(5):489–94. doi:10.1101/gad.256214.114 PubMed PMID: 25737278; PubMed Central PMCID: PMC4358401.

123. Norquist B, Wurz KA, Pennil CC, Garcia R, Gross J, Sakai W, et al. Secondary Somatic Mutations Restoring BRCA1/2 Predict Chemotherapy Resistance in Hereditary Ovarian Carcinomas. *J Clin Oncol*. 01, Серпень 2011;29(22):3008–15. doi:10.1200/JCO.2010.34.2980 PubMed PMID: 21709188; PubMed Central PMCID: PMC3157963.
124. Schrock MS, Batar B, Lee J, Druck T, Ferguson B, Cho JH, et al. Wwox–Brca1 interaction: role in DNA repair pathway choice. *Oncogene*. 20, Квітень 2017;36(16):2215–27. doi:10.1038/onc.2016.389 PubMed PMID: 27869163; PubMed Central PMCID: PMC5398941.
125. Zhang Y, Huang S, Guo Y, Li L. MiR-1294 confers cisplatin resistance in ovarian Cancer cells by targeting IGF1R. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother*. Жовтень 2018;106:1357–63. doi:10.1016/j.biopha.2018.07.059 PubMed PMID: 30119207.
126. Vera O, Jimenez J, Pernia O, Rodriguez-Antolin C, Rodriguez C, Sanchez Cabo F, et al. DNA Methylation of miR-7 is a Mechanism Involved in Platinum Response through MAFG Overexpression in Cancer Cells. *Theranostics*. 22, Вересень 2017;7(17):4118–34. doi:10.7150/thno.20112 PubMed PMID: 29158814; PubMed Central PMCID: PMC5695001.
127. Meghani K, Fuchs W, Detappe A, Drané P, Gogola E, Rottenberg S, et al. Multifaceted Impact of MicroRNA 493-5p on Genome-Stabilizing Pathways Induces Platinum and PARP Inhibitor Resistance in BRCA2-Mutated Carcinomas. *Cell Rep*. 03, Квітень 2018;23(1):100–11. doi:10.1016/j.celrep.2018.03.038 PubMed PMID: 29617652; PubMed Central PMCID: PMC5908239.
128. Wei Z, Liu Y, Wang Y, Zhang Y, Luo Q, Man X, et al. Downregulation of Foxo3 and TRIM31 by miR-551b in side population promotes cell proliferation, invasion, and drug resistance of ovarian cancer. *Med Oncol*

- Northwood Lond Engl. 2016;33(11):126. doi:10.1007/s12032-016-0842-9
PubMed PMID: 27743201; PubMed Central PMCID: PMC5065596.
129. Echevarría-Vargas IM, Valiyeva F, Vivas-Mejía PE. Upregulation of miR-21 in Cisplatin Resistant Ovarian Cancer via JNK-1/c-Jun Pathway. PLoS ONE. 27, Травень 2014;9(5):e97094. doi:10.1371/journal.pone.0097094 PubMed PMID: 24865582; PubMed Central PMCID: PMC4035252.
130. Li X, Chen W, Jin Y, Xue R, Su J, Mu Z, et al. miR-142-5p enhances cisplatin-induced apoptosis in ovarian cancer cells by targeting multiple anti-apoptotic genes. Biochem Pharmacol. Березень 2019;161:98–112. doi:10.1016/j.bcp.2019.01.009 PubMed PMID: 30639456.
131. Arrighetti N, Cossa G, De Cecco L, Stucchi S, Carenini N, Corna E, et al. PKC-alpha modulation by miR-483-3p in platinum-resistant ovarian carcinoma cells. Toxicol Appl Pharmacol. 01, Листопад 2016;310:9–19. doi:10.1016/j.taap.2016.08.005 PubMed PMID: 27554045.
132. Ramalho S, Andrade LADA, Filho CC, Natal R de A, Pavanello M, Ferracini AC, et al. Role of discoidin domain receptor 2 (DDR2) and microRNA-182 in survival of women with high-grade serous ovarian cancer. Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med. Січень 2019;41(1):1010428318823988. doi:10.1177/1010428318823988 PubMed PMID: 30810094.
133. Muñoz-Galván S, Felipe-Abrio B, Verdugo-Sivianes EM, Perez M, Jiménez-García MP, Suarez-Martinez E, et al. Downregulation of MYPT1 increases tumor resistance in ovarian cancer by targeting the Hippo pathway and increasing the stemness. Mol Cancer. 11, Січень 2020;19:7. doi:10.1186/s12943-020-1130-z PubMed PMID: 31926547; PubMed Central PMCID: PMC6954568.

134. Anderson NM, Simon MC. Tumor Microenvironment. *Curr Biol CB*. 17, Серпень 2020;30(16):R921–5. doi:10.1016/j.cub.2020.06.081 PubMed PMID: 32810447; PubMed Central PMCID: PMC8194051.
135. Belli C, Trapani D, Viale G, D'Amico P, Duso BA, Della Vigna P, et al. Targeting the microenvironment in solid tumors. *Cancer Treat Rev*. Квітень 2018;65:22–32. doi:10.1016/j.ctrv.2018.02.004 PubMed PMID: 29502037.
136. Qin X, Guo H, Wang X, Zhu X, Yan M, Wang X, et al. Exosomal miR-196a derived from cancer-associated fibroblasts confers cisplatin resistance in head and neck cancer through targeting CDKN1B and ING5. *Genome Biol*. 14, Січень 2019;20:12. doi:10.1186/s13059-018-1604-0 PubMed PMID: 30642385; PubMed Central PMCID: PMC6332863.
137. Zheng P, Chen L, Yuan X, Luo Q, Liu Y, Xie G, et al. Exosomal transfer of tumor-associated macrophage-derived miR-21 confers cisplatin resistance in gastric cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res CR*. 13, Квітень 2017;36:53. doi:10.1186/s13046-017-0528-y PubMed PMID: 28407783; PubMed Central PMCID: PMC5390430.
138. Akkari L, Joyce JA. Microenvironmental InterFereNce of metabolism regulates chemosensitivity. *Cell Res*. Серпень 2016;26(8):867–8. doi:10.1038/cr.2016.82 PubMed PMID: 27349476; PubMed Central PMCID: PMC4973332.
139. Wang W, Kryczek I, Dostál L, Lin H, Tan L, Zhao L, et al. Effector T Cells Abrogate Stroma-Mediated Chemoresistance in Ovarian Cancer. *Cell*. 19, Травень 2016;165(5):1092–105. doi:10.1016/j.cell.2016.04.009 PubMed PMID: 27133165; PubMed Central PMCID: PMC4874853.
140. Liu W, Chen H, Wong N, Haynes W, Baker CM, Wang X. Pseudohypoxia Induced by miR-126 Deactivation Promotes Migration and Therapeutic Resistance in Renal Cell Carcinoma. *Cancer Lett*. 28, Травень 2017;394:65–

75. doi:10.1016/j.canlet.2017.02.025 PubMed PMID: 28257806; PubMed Central PMCID: PMC5389460.
141. Xu Y, Gao W, Zhang Y, Wu S, Liu Y, Deng X, et al. ABT737 reverses cisplatin resistance by targeting glucose metabolism of human ovarian cancer cells. *Int J Oncol.* 09, Липень 2018;53(3):1055–68. doi:10.3892/ijo.2018.4476 PubMed PMID: 30015875; PubMed Central PMCID: PMC6065457.
142. Ai Z, Lu Y, Qiu S, Fan Z. Overcoming cisplatin resistance of ovarian cancer cells by targeting HIF-1-regulated cancer metabolism. *Cancer Lett.* 01, Квітень 2016;373(1):36–44. doi:10.1016/j.canlet.2016.01.009 PubMed PMID: 26801746; PubMed Central PMCID: PMC4769873.
143. Kumar A, Singh UK, Chaudhary A. Targeting autophagy to overcome drug resistance in cancer therapy. *Future Med Chem.* Серпень 2015;7(12):1535–42. doi:10.4155/fmc.15.88 PubMed PMID: 26334206.
144. Mahdavi Sharif P, Jabbari P, Razi S, Keshavarz-Fathi M, Rezaei N. Importance of TNF-alpha and its alterations in the development of cancers. *Cytokine.* 01, Червень 2020;130:155066. doi:10.1016/j.cyto.2020.155066
145. Falvo JV, Tsytsykova AV, Goldfeld AE. Transcriptional control of the TNF gene. *Curr Dir Autoimmun.* 2010;11:27–60. doi:10.1159/000289196 PubMed PMID: 20173386; PubMed Central PMCID: PMC4785889.
146. Huh JH, Kim TH, Kim K, Song JA, Jung YJ, Jeong JY, et al. Dysregulation of miR-106a and miR-591 confers paclitaxel resistance to ovarian cancer. *Br J Cancer.* 23, Липень 2013;109(2):452–61. doi:10.1038/bjc.2013.305
147. Faustman D, Davis M. TNF receptor 2 pathway: drug target for autoimmune diseases. *Nat Rev Drug Discov.* Червень 2010;9(6):482–93. doi:10.1038/nrd3030 PubMed PMID: 20489699.

148. Nomelini RS, Borges Júnior LE, De Lima CA, Chiovato AFC, Micheli DC, Tavares-Murta BM, et al. TNF-R2 in tumor microenvironment as prognostic factor in epithelial ovarian cancer. *Clin Exp Med*. Листопад 2018;18(4):547–54. doi:10.1007/s10238-018-0508-3
149. Torrey H, Butterworth J, Mera T, Okubo Y, Wang L, Baum D, et al. Targeting TNFR2 with antagonistic antibodies inhibits proliferation of ovarian cancer cells and tumor-associated Tregs. *Sci Signal*. 17, Січень 2017;10(462):eaaf8608. doi:10.1126/scisignal.aaf8608 PubMed PMID: 28096513.
150. Gersuk GM, Beckham C, Loken MR, Kiener P, Anderson JE, Farrand A, et al. A role for tumour necrosis factor-alpha, Fas and Fas-Ligand in marrow failure associated with myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol*. ЖОВТЕНЬ 1998;103(1):176–88. doi:10.1046/j.1365-2141.1998.00933.x PubMed PMID: 9792306.
151. Parnes A, Nikiforow S, Berliner N, Vanasse GJ. Single nucleotide polymorphisms in the human TNF gene are associated with anaemia and neutropenia in a cohort of patients with de novo myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol*. Вересень 2010;150(6):700–1. doi:10.1111/j.1365-2141.2010.08254.x PubMed PMID: 20618340.
152. Waage A, Liabakk N, Lien E, Lamvik J, Espevik T. p55 and p75 tumor necrosis factor receptors in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 15, Листопад 1992;80(10):2577–83. PubMed PMID: 1384790.
153. Yang H, Bocchetta M, Kroczyńska B, Elmishad AG, Chen Y, Liu Z, et al. TNF-alpha inhibits asbestos-induced cytotoxicity via a NF-kappaB-dependent pathway, a possible mechanism for asbestos-induced oncogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 05, Липень 2006;103(27):10397–402.

doi:10.1073/pnas.0604008103 PubMed PMID: 16798876; PubMed Central PMCID: PMC1502469.

154. Yan B, Wang H, Rabbani ZN, Zhao Y, Li W, Yuan Y, et al. Tumor necrosis factor-alpha is a potent endogenous mutagen that promotes cellular transformation. *Cancer Res.* 15, Грудень 2006;66(24):11565–70. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-2540 PubMed PMID: 17178846.
155. Tumor necrosis factor alpha promotes invasiveness of cholangiocarcinoma cells via its receptor, TNFR2 - PubMed [Інтернет]. [цит. за 23, Листопад 2023]. Доступний у: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15723721/>
156. TNF-Alpha Promotes Invasion and Metastasis via NF-Kappa B Pathway in Oral Squamous Cell Carcinoma - PubMed [Інтернет]. [цит. за 23, Листопад 2023]. Доступний у: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28386055/>
157. Sade-Feldman M, Kanterman J, Ish-Shalom E, Elnekave M, Horwitz E, Baniyash M. Tumor necrosis factor- α blocks differentiation and enhances suppressive activity of immature myeloid cells during chronic inflammation. *Immunity.* 21, Березень 2013;38(3):541–54. doi:10.1016/j.immuni.2013.02.007 PubMed PMID: 23477736.
158. Nowak M, Klink M, Glowacka E, Sulowska Z, Kulig A, Szpakowski M, et al. Production of Cytokines During Interaction of Peripheral Blood Mononuclear Cells with Autologous Ovarian Cancer Cells or Benign Ovarian Tumour Cells. *Scand J Immunol.* 2010;71(2):91–8. doi:10.1111/j.1365-3083.2009.02350.x
159. Robaye B, Mosselmans R, Fiers W, Dumont JE, Galand P. Tumor necrosis factor induces apoptosis (programmed cell death) in normal endothelial cells in vitro. *Am J Pathol.* Лютий 1991;138(2):447–53. PubMed PMID: 1992769; PubMed Central PMCID: PMC1886201.

160. Bhattacharyya S, Mandal D, Sen GS, Pal S, Banerjee S, Lahiry L, et al. Tumor-induced oxidative stress perturbs nuclear factor-kappaB activity-augmenting tumor necrosis factor-alpha-mediated T-cell death: protection by curcumin. *Cancer Res.* 01, Січень 2007;67(1):362–70. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-2583 PubMed PMID: 17210719.
161. Kimura K, Bowen C, Spiegel S, Gelmann EP. Tumor necrosis factor-alpha sensitizes prostate cancer cells to gamma-irradiation-induced apoptosis. *Cancer Res.* 01, Квітень 1999;59(7):1606–14. PubMed PMID: 10197636.
162. Zhao X, Mohaupt M, Jiang J, Liu S, Li B, Qin Z. Tumor necrosis factor receptor 2-mediated tumor suppression is nitric oxide dependent and involves angiostasis. *Cancer Res.* 01, Травень 2007;67(9):4443–50. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-0185 PubMed PMID: 17483359.
163. Pawlik W, Pawlik J, Kozłowski M, Łuczkowska K, Kwiatkowski S, Kwiatkowska E, et al. The Clinical Importance of IL-6, IL-8, and TNF- α in Patients with Ovarian Carcinoma and Benign Cystic Lesions. *Diagnostics.* Вересень 2021;11(9):9. doi:10.3390/diagnostics11091625
164. Expression of TNF in ovarian cancer - The Human Protein Atlas [Інтернет]. [цит. за 24, Листопад 2023]. Доступний у: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000232810-TNF/pathology/ovarian+cancer/OV>
165. Zhang T, Liu Q, Zhu Y, Huang Y, Qin J, Wu X, et al. Lymphocyte and macrophage infiltration in omental metastases indicates poor prognosis in advance stage epithelial ovarian cancer. *J Int Med Res.* 23, Грудень 2021;49(12):03000605211066245. doi:10.1177/03000605211066245 PubMed PMID: 34939862; PubMed Central PMCID: PMC8721736.
166. Nowak M, Klink M. The Role of Tumor-Associated Macrophages in the Progression and Chemoresistance of Ovarian Cancer. *Cells.* 22, Травень

- 2020;9(5):1299. doi:10.3390/cells9051299 PubMed PMID: 32456078;
PubMed Central PMCID: PMC7290435.
167. Володько НА, Ломницька МІ, Черних ЮБ, Барилка ВА. Експресія ФНП, ТФР- β та p53 у клітинах клінічно чутливого та резистентного до дії цисплатину раку яєчника [Інтернет]. 2009 [цит. за 12, Жовтень 2025]. Доступний у: <https://nasplib.isofts.kiev.ua/handle/123456789/19653>
168. Zhang Z, Lin G, Yan Y, Li X, Hu Y, Wang J, et al. Transmembrane TNF-alpha promotes chemoresistance in breast cancer cells. *Oncogene*. 2018;37(25):3456–70. doi:10.1038/s41388-018-0221-4 PubMed PMID: 29559745; PubMed Central PMCID: PMC6013421.
169. Jo E, Jang HJ, Yang KE, Jang MS, Huh YH, Yoo HS, et al. Cordyceps militaris Exerts Antitumor Effect on Carboplatin-Resistant Ovarian Cancer via Activation of ATF3/TP53 Signaling In Vitro and In Vivo. *Nat Prod Commun*. 01, Січень 2020;15(1):1934578X20902558. doi:10.1177/1934578X20902558
170. Li Y, Zhou Q, Shen J, Zhu L. Down-regulation of PSMD4 can attenuate autophagy, enhance the accumulation of intracellular ROS, and increase the sensitivity of epithelial ovarian cancer to carboplatin by inhibiting the NF- κ B pathway. *Transl Cancer Res*. Листопад 2021;10(11). doi:10.21037/tcr-21-1389
171. Fetsych M, Igumentseva N, Ferneza S, Yarema R, Volodko N. CYTOKINE-MODULATING INFLUENCE OF HIPEC ON THE INTRAPERITONEAL HOMEOSTASIS FORMATION IN PATIENTS WITH OVARIAN CANCER. *Proceeding Shevchenko Sci Soc Med Sci*. 22, Грудень 2023;72. doi:10.25040/ntsh2023.02.14
172. Aronson SL, Walker C, Thijssen B, van de Vijver KK, Horlings HM, Sanders J, et al. Tumour microenvironment characterisation to stratify patients for hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in high-grade serous ovarian

- cancer (OVHIPEC-1). *Br J Cancer*. Серпень 2024;131(3):565–76.
doi:10.1038/s41416-024-02731-6 PubMed PMID: 38866963; PubMed Central
PMCID: PMC11300911.
173. Edwardson DW, Boudreau J, Mapletoft J, Lanner C, Kovala AT, Parissenti AM. Inflammatory cytokine production in tumor cells upon chemotherapy drug exposure or upon selection for drug resistance. *PLOS ONE*. 15, Вересень 2017;12(9):e0183662. doi:10.1371/journal.pone.0183662
174. Boonmee A, Benjaskulluecha S, Kueanjinda P, Wongprom B, Pattarakankul T, Palaga T. The chemotherapeutic drug carboplatin affects macrophage responses to LPS and LPS tolerance via epigenetic modifications. *Sci Rep*. 03, Листопад 2021;11:21574. doi:10.1038/s41598-021-00955-7 PubMed PMID: 34732786; PubMed Central PMCID: PMC8566489.
175. Balkwill F. Tumour necrosis factor and cancer. *Nat Rev Cancer*. Травень 2009;9(5):5. doi:10.1038/nrc2628
176. Cao W, Chi WH, Wang J, Tang JJ, Lu YJ. TNF-alpha promotes Doxorubicin-induced cell apoptosis and anti-cancer effect through downregulation of p21 in p53-deficient tumor cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 20, Травень 2005;330(4):1034–40. doi:10.1016/j.bbrc.2005.02.188 PubMed PMID: 15823547.
177. Hambek M, Solbach C, Schnuerch HG, Roller M, Stegmüller M, Sterner-Kock A, et al. Tumor necrosis factor alpha sensitizes low epidermal growth factor receptor (EGFR)-expressing carcinomas for anti-EGFR therapy. *Cancer Res*. 01, Лютий 2001;61(3):1045–9. PubMed PMID: 11221831.
178. Ando K, Ohmori T, Inoue F, Kadofuku T, Hosaka T, Ishida H, et al. Enhancement of sensitivity to tumor necrosis factor alpha in non-small cell lung cancer cells with acquired resistance to gefitinib. *Clin Cancer Res Off J*

- Am Assoc Cancer Res. 15, Грудень 2005;11(24 Pt 1):8872–9.
doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-0811 PubMed PMID: 16361577.
179. Gahlawat AW, Witte T, Haarhuis L, Schott S. A novel circulating miRNA panel for non-invasive ovarian cancer diagnosis and prognosis. *Br J Cancer*. Листопад 2022;127(8):1550–6. doi:10.1038/s41416-022-01925-0
180. CPX-351 (cytarabine and daunorubicin) Liposome for Injection Versus Conventional Cytarabine Plus Daunorubicin in Older Patients With Newly Diagnosed Secondary Acute Myeloid Leukemia - PubMed [Інтернет]. [цит. за 23, Грудень 2024]. Доступний у:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30024784/>
181. Murtaza M, Dawson SJ, Pogrebniak K, Rueda OM, Provenzano E, Grant J, et al. Multifocal clonal evolution characterized using circulating tumour DNA in a case of metastatic breast cancer. *Nat Commun*. 04, Листопад 2015;6:8760. doi:10.1038/ncomms9760 PubMed PMID: 26530965; PubMed Central PMCID: PMC4659935.
182. Frederick P, Green H, Huang J, Egger M, Frieboes H, Grizzle W, et al. Chemoresistance in ovarian cancer linked to expression of microRNAs. *B: Biotechnic and Histochemistry*. 2013. с. 403–9. doi:10.3109/10520295.2013.788736
183. Kobayashi M, Salomon C, Tapia J, Illanes SE, Mitchell MD, Rice GE. Ovarian cancer cell invasiveness is associated with discordant exosomal sequestration of Let-7 miRNA and miR-200. *J Transl Med*. 06, Січень 2014;12(1). doi:10.1186/1479-5876-12-4 PubMed PMID: 24393345.
184. Yokoi A, Matsuzaki J, Yamamoto Y, Yoneoka Y, Takahashi K, Shimizu H, et al. Integrated extracellular microRNA profiling for ovarian cancer screening. *Nat Commun*. 01, Грудень 2018;9(1). doi:10.1038/s41467-018-06434-4

185. Prahm KP, Novotny GW, Høgdall C, Høgdall E. Current status on microRNAs as biomarkers for ovarian cancer. *APMIS*. 2016;124(5). doi:10.1111/apm.12514
186. MicroRNAs and cancer | SpringerLink [Інтернет]. [цит. за 28, Листопад 2023]. Доступний у:
<https://link.springer.com/article/10.1134/S0026893314020083>
187. Ke G, Liang L, Yang JM, Huang X, Han D, Huang S, et al. MiR-181a confers resistance of cervical cancer to radiation therapy through targeting the pro-apoptotic PRKCD gene. *Oncogene*. 20, Червень 2013;32(25):3019–27. doi:10.1038/onc.2012.323 PubMed PMID: 22847611.
188. Zhang S, Lu Z, Unruh AK, Ivan C, Baggerly KA, Calin GA, et al. Clinically relevant microRNAs in ovarian cancer. *Mol Cancer Res MCR*. Березень 2015;13(3):393–401. doi:10.1158/1541-7786.MCR-14-0424 PubMed PMID: 25304686; PubMed Central PMCID: PMC4369176.
189. Chekhun VF. MicroRNAs are a key factor in the globalization of tumor-host relationships. *Exp Oncol*. Вересень 2019;41(3):188–94. doi:10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-41-no-3.13431 PubMed PMID: 31569938.
190. ЦИРКУЛЮЮЧІ мікроРНК: ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ДЛЯ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ТА МОНІТОРИНГУ ПЕРЕБІГУ ПУХЛИННОГО ПРОЦЕСУ – Онкологія [Інтернет]. [цит. за 28, Листопад 2023]. Доступний у:
<https://www.oncology.kiev.ua/article/8001/cirkulyuyuchi-mikrornk-perspektivi-vikoristannya-dlya-rannoi-diagnostiki-ta-monitoringu-perebigu-puxlinnogo-procesu>
191. Larrea E, Sole C, Manterola L, Goicoechea I, Armesto M, Arestin M, et al. New concepts in cancer biomarkers: Circulating miRNAs in liquid biopsies. *Int J Mol Sci*. 27, Квітень 2016;17(5). doi:10.3390/ijms17050627

192. WBSMDA: Within and Between Score for MiRNA-Disease Association prediction | Scientific Reports [Интернет]. [цит. за 29, Листопад 2023]. Доступний у: <https://www.nature.com/articles/srep21106>
193. Lekka E, Hall J. Noncoding RNAs in disease. FEBS Lett. 01, Вересень 2018;592(17):2884–900. doi:10.1002/1873-3468.13182
194. Vishnoi A, Rani S. MiRNA biogenesis and regulation of diseases: An overview. В: Methods in Molecular Biology. Humana Press Inc.; 2017. с. 1–10. doi:10.1007/978-1-4939-6524-3_1
195. miR-214 as a key hub that controls cancer networks: small player, multiple functions - PubMed [Интернет]. [цит. за 29, Листопад 2023]. Доступний у: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25501033/>
196. Chen SN, Chang R, Lin LT, Chern CU, Tsai HW, Wen ZH, et al. MicroRNA in ovarian cancer: Biology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. Int J Environ Res Public Health. 01, Травень 2019;16(9). doi:10.3390/ijerph16091510
197. Kissel'jov FL. MicroRNAs and cancer. Mol Biol. 2014;48(2):197–206. doi:10.1134/S0026893314020083
198. Blower PE, Chung JH, Verducci JS, Lin S, Park JK, Dai Z, et al. MicroRNAs modulate the chemosensitivity of tumor cells. Mol Cancer Ther. Січень 2008;7(1):1–9. doi:10.1158/1535-7163.MCT-07-0573 PubMed PMID: 18187804.
199. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases | Cell Research [Интернет]. [цит. за 30, Листопад 2023]. Доступний у: <https://www.nature.com/articles/cr2008282>

200. Matsuzaki J, Ochiya T. Circulating microRNAs and extracellular vesicles as potential cancer biomarkers: a systematic review. *Int J Clin Oncol.* 27, Червень 2017;22(3):413–20. doi:10.1007/s10147-017-1104-3
201. Specific miRNA Disease Biomarkers in Blood, Serum and Plasma: Challenges and Prospects | SpringerLink [Інтернет]. [цит. за 30, Листопад 2023]. Доступний у: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40291-016-0221-4>
202. CIRCULATING microRNAs: PROSPECTS OF USE FOR EARLY DIAGNOSTICS AND MONITORING OF TUMOR PROCESS – *Oncology* [Інтернет]. [цит. за 30, Листопад 2023]. Доступний у: <https://www.oncology.kiev.ua/en/article/8010/circulating-micrnas-prospects-of-use-for-early-diagnostics-and-monitoring-of-tumor-process>
203. мікроРНК-126, -205, -214 ПРИ ДОБРОЯКІСНИХ І ЗЛОЯКІСНИХ НОВОУТВОРЕННЯХ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ: ОБҐРУНТУВАННЯ МОЖЛИВОГО ДІАГНОСТИЧНОГО ТА ПРОГНОСТИЧНОГО ЗНАЧЕННЯ – *Онкологія* [Інтернет]. [цит. за 23, Вересень 2019]. Доступний у: <https://www.oncology.kiev.ua/article/7695/mikrorнк-126-205-214-pri-dobroyakisnix-i-zloyakisnix-novoutvorennyax-peredmixurovoi-zalozii-ob-runtuvannya-mozhlivogo-diagnostichnogo-ta-prognostichnogo-znachennya>
204. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of microRNAs in serum: A novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res.* Жовтень 2008;18(10):997–1006. doi:10.1038/cr.2008.282 PubMed PMID: 18766170.
205. ПРОГНОСТИЧНІ МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ МАРКЕРИ ЗЛОЯКІСНОЇ ФІБРОЗНОЇ ГІСТІОЦИТОМИ – *Онкологія* [Інтернет]. [цит. за 23, Вересень 2019]. Доступний у:

<https://www.oncology.kiev.ua/article/7267/prognostichni-molekulyarno-biologichni-markeri-zloyakisnoi-fibroznai-gistiocitomi>

206. Чехун ВФ, Лук'янова НЮ, Борікун ТВ, Безденежних НО, Шепеленко ІВ, Базась ВМ, et al. КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ ПУХЛИННИХ МІКРОРНК-122,-155,-182 ТА-200b У ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ [Інтернет]. doi:10.15407/scin13.05.067
207. Ultimo S, Zauli G, Martelli AM, Vitale M, McCubrey JA, Capitani S, et al. Cardiovascular disease-related miRNAs expression: potential role as biomarkers and effects of training exercise. *Oncotarget*. 30, Березень 2018;9(24):17238–54. doi:10.18632/oncotarget.24428 PubMed PMID: 29682219; PubMed Central PMCID: PMC5908320.
208. Gadducci A, Sergiampietri C, Lanfredini N, Guiggi I. Micro-RNAs and ovarian cancer: The state of art and perspectives of clinical research. *Gynecol Endocrinol*. Квітень 2014;30(4):266–71. doi:10.3109/09513590.2013.871525
209. Merritt WM, Lin YG, Han LY, Kamat AA, Spannuth WA, Schmandt R, et al. Dicer, Drosha, and outcomes in patients with ovarian cancer. *N Engl J Med*. 18, Грудень 2008;359(25):2641–50. doi:10.1056/NEJMoa0803785 PubMed PMID: 19092150; PubMed Central PMCID: PMC2710981.
210. Kuang Y, Cai J, Li D, Han Q, Cao J, Wang Z. Repression of Dicer is associated with invasive phenotype and chemoresistance in ovarian cancer. *Oncol Lett*. Квітень 2013;5(4):1149–54. doi:10.3892/ol.2013.1158
211. Flavin RJ, Smyth PC, Finn SP, Laios A, O'Toole SA, Barrett C, et al. Altered eIF6 and Dicer expression is associated with clinicopathological features in ovarian serous carcinoma patients. *Mod Pathol*. 01, Червень 2008;21(6):676–84. doi:10.1038/modpathol.2008.33

212. Vaksman O, Hetland TE, Trope' CG, Reich R, Davidson B. Argonaute, Dicer, and Drosha are up-regulated along tumor progression in serous ovarian carcinoma. *Hum Pathol.* Листопад 2012;43(11):2062–9.
doi:10.1016/j.humpath.2012.02.016
213. Liu N, Zhou C, Zhao J, Chen Y. Reversal of paclitaxel resistance in epithelial ovarian carcinoma cells by a muc1 aptamer-let-7i chimera. *Cancer Invest.* ЖОВТЕНЬ 2012;30(8):577–82. doi:10.3109/07357907.2012.707265
214. Hu X, Macdonald DM, Huettner PC, Feng Z, El Naqa IM, Schwarz JK, et al. A miR-200 microRNA cluster as prognostic marker in advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* Вересень 2009;114(3):457–64.
doi:10.1016/j.ygyno.2009.05.022 PubMed PMID: 19501389.
215. Ibrahim FF, Jamal R, Syafruddin SE, Ab Mutalib NS, Saidin S, MdZin RR, et al. MicroRNA-200c and microRNA-31 regulate proliferation, colony formation, migration and invasion in serous ovarian cancer. *J Ovarian Res.* 12, Серпень 2015;8(1):56. doi:10.1186/s13048-015-0186-7
216. Xu S, Xu P, Wu W, Ou Y, Xu J, Zhang G, et al. The Biphasic Expression Pattern of miR-200a and E-cadherin in Epithelial Ovarian Cancer and its Correlation with Clinicopathological Features. *Curr Pharm Des.* 05, Квітень 2014;20(11):1888–95. doi:10.2174/13816128113199990523 PubMed PMID: 23888941.
217. Cochrane DR, Howe EN, Spoelstra NS, Richer JK. Loss of miR-200c: A Marker of Aggressiveness and Chemoresistance in Female Reproductive Cancers. *J Oncol.* 2010;2010:821717. doi:10.1155/2010/821717 PubMed PMID: 20049172.
218. Cittelly DM, Dimitrova I, Howe EN, Cochrane DR, Jean A, Spoelstra NS, et al. Restoration of miR-200c to ovarian cancer reduces tumor burden and

- increases sensitivity to paclitaxel. *Mol Cancer Ther.* Грудень 2012;11(12):2556–65. doi:10.1158/1535-7163.MCT-12-0463
219. Prislei S, Martinelli E, Mariani M, Raspaglio G, Sieber S, Ferrandina G, et al. MiR-200c and HuR in ovarian cancer. *BMC Cancer.* 08, Лютий 2013;13. doi:10.1186/1471-2407-13-72 PubMed PMID: 23394580.
220. Yang H, Kong W, He L, Zhao JJ, O'Donnell JD, Wang J, et al. MicroRNA expression profiling in human ovarian cancer: miR-214 induces cell survival and cisplatin resistance by targeting PTEN. *Cancer Res.* 15, Січень 2008;68(2):425–33. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-2488
221. Zhu CL, Gao GS. miR-200a overexpression in advanced ovarian carcinomas as a prognostic indicator. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(20):8595–601. doi:10.7314/APJCP.2014.15.20.8595 PubMed PMID: 25374174.
222. Cao Q, Lu K, Dai S, Hu Y, Fan W. Clinicopathological and prognostic implications of the miR-200 family in patients with epithelial ovarian cancer. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(5):2392–401. PubMed PMID: 24966949.
223. Sun Q, Zou X, Zhang T, Shen J, Yin Y, Xiang J. The role of miR-200a in vasculogenic mimicry and its clinical significance in ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 01, Березень 2014;132(3):730–8. doi:10.1016/j.ygyno.2014.01.047
224. Suo HB, Zhang KC, Zhao J. MiR-200a promotes cell invasion and migration of ovarian carcinoma by targeting PTEN. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018;22(13):4080–9. doi:10.26355/eurrev_201807_15398 PubMed PMID: 30024595.
225. Zhu CL, Gao GS. miR-200a overexpression in advanced ovarian carcinomas as a prognostic indicator. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(20):8595–601. doi:10.7314/APJCP.2014.15.20.8595 PubMed PMID: 25374174.

226. Boisen MK, Dehlendorff C, Linnemann D, Schultz NA, Jensen BV, Høgdall EVS, et al. MicroRNA Expression in Formalin-fixed Paraffin-embedded Cancer Tissue: Identifying Reference MicroRNAs and Variability. *BMC Cancer*. 29, Грудень 2015;15(1):1024. doi:10.1186/s12885-015-2030-2
227. Lu YM, Shang C, Ou YL, Yin D, Li YN, Li X, et al. miR-200c modulates ovarian cancer cell metastasis potential by targeting zinc finger E-box-binding homeobox 2 (ZEB2) expression. *Med Oncol*. 23, Липень 2014;31(8):1–11. doi:10.1007/s12032-014-0134-1
228. Wyman SK, Parkin RK, Mitchell PS, Fritz BR, O'Briant K, Godwin AK, et al. Repertoire of microRNAs in Epithelial Ovarian Cancer as Determined by Next Generation Sequencing of Small RNA cDNA Libraries. *Deu SK, за ред. PLoS ONE*. 23, Квітень 2009;4(4):e5311. doi:10.1371/journal.pone.0005311
229. Eitan R, Kushnir M, Lithwick-Yanai G, David MB, Hoshen M, Glezerman M, et al. Tumor microRNA expression patterns associated with resistance to platinum based chemotherapy and survival in ovarian cancer patients. *Gynecol Oncol*. Серпень 2009;114(2):253–9. doi:10.1016/j.ygyno.2009.04.024
230. Gao Y chun, Wu J. MicroRNA-200c and microRNA-141 as potential diagnostic and prognostic biomarkers for ovarian cancer. *Tumor Biol*. 11, Червень 2015;36(6):4843–50. doi:10.1007/s13277-015-3138-3
231. Mateescu B, Batista L, Cardon M, Gruosso T, De Feraudy Y, Mariani O, et al. MiR-141 and miR-200a act on ovarian tumorigenesis by controlling oxidative stress response. *Nat Med*. 20, Грудень 2011;17(12):1627–35. doi:10.1038/nm.2512
232. Leskelä S, Leandro-García LJ, Mendiola M, Barriuso J, Inglada-Pérez L, Muñoz I, et al. The miR-200 family controls β -tubulin III expression and is associated with paclitaxel-based treatment response and progression-free

- survival in ovarian cancer patients. *Endocr Relat Cancer*. Лютий 2011;18(1):85–95. doi:10.1677/ERC-10-0148
233. Chen GW. Upregulation of microRNA-200a associates with tumor proliferation, CSCs phenotype and chemosensitivity in ovarian cancer The clinical trial of human uterine transplantation via living donor and brain-dead donor approaches. View project [Интернет]. doi:10.4149/neo_2015_066
234. Kan CWS, Hahn MA, Gard GB, Maidens J, Huh JY, Marsh DJ, et al. Elevated levels of circulating microRNA-200 family members correlate with serous epithelial ovarian cancer. *BMC Cancer*. 28, Грудень 2012;12:627. doi:10.1186/1471-2407-12-627
235. Nam EJ, Yoon H, Kim SW, Kim H, Kim YT, Kim JH, et al. MicroRNA expression profiles in serous ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res*. 01, Травень 2008;14(9):2690–5. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-1731
236. Vilming Elgaaen B, Olstad OK, Haug KBF, Brusletto B, Sandvik L, Staff AC, et al. Global miRNA expression analysis of serous and clear cell ovarian carcinomas identifies differentially expressed miRNAs including miR-200c-3p as a prognostic marker. *BMC Cancer*. 11, Лютий 2014;14(1):80. doi:10.1186/1471-2407-14-80
237. Meng X, Müller V, Milde-Langosch K, Trillsch F, Pantel K, Schwarzenbach H. Diagnostic and prognostic relevance of circulating exosomal miR-373, miR-200a, miR-200b and miR-200c in patients with epithelial ovarian cancer. *Oncotarget*. 2016;7(13). doi:10.18632/oncotarget.7850
238. Iorio MV, Visone R, Di Leva G, Donati V, Petrocca F, Casalini P, et al. MicroRNA signatures in human ovarian cancer. *Cancer Res*. 15, Вересень 2007;67(18):8699–707. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-1936 PubMed PMID: 17875710.

239. Yang N, Kaur S, Volinia S, Greshock J, Lassus H, Hasegawa K, et al. MicroRNA microarray identifies Let-7i as a novel biomarker and therapeutic target in human epithelial ovarian cancer. *Cancer Res.* 15, Грудень 2008;68(24):10307–14. doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-1954
240. Wang Y, Hu X, Greshock J, Shen L, Yang X, Shao Z, et al. Genomic DNA Copy-Number Alterations of the let-7 Family in Human Cancers. *PLoS ONE.* 06, Вересень 2012;7(9). doi:10.1371/journal.pone.0044399
241. Dahiya N, Sherman-Baust CA, Wang TL, Davidson B, Shih IM, Zhang Y, et al. MicroRNA Expression and Identification of Putative miRNA Targets in Ovarian Cancer. Hoheisel J, за ред. *PLoS ONE.* 18, Червень 2008;3(6):e2436. doi:10.1371/journal.pone.0002436
242. Helland Å, Anglesio MS, George J, Cowin PA, Johnstone CN, House CM, et al. Deregulation of MYCN, LIN28B and LET7 in a molecular subtype of aggressive high-grade serous ovarian cancers. *PLoS ONE.* 2011;6(4). doi:10.1371/journal.pone.0018064
243. Langhe R, Norris L, Saadeh FA, Blackshields G, Varley R, Harrison A, et al. A novel serum microRNA panel to discriminate benign from malignant ovarian disease. *Cancer Lett.* 28, Січень 2015;356(2):628–36. doi:10.1016/j.canlet.2014.10.010
244. Chirshev E, Suzuki T, Wang H, Nguyen A, Hojo N, Sanderman L, et al. Let-7i Reduces Aggressive Phenotype and Induces BRCAness in Ovarian Cancer Cells. *Cancers.* 15, Вересень 2021;13(18):4617. doi:10.3390/cancers13184617 PubMed PMID: 34572843; PubMed Central PMCID: PMC8468164.
245. Langhe R, Norris L, Saadeh FA, Blackshields G, Varley R, Harrison A, et al. A novel serum microRNA panel to discriminate benign from malignant

ovarian disease. *Cancer Lett.* 28, Січень 2015;356(2):628–36.
doi:10.1016/j.canlet.2014.10.010

246. Lu L, Schwartz P, Scarampi L, Rutherford T, Canuto EM, Yu H, et al. MicroRNA let-7a: A potential marker for selection of paclitaxel in ovarian cancer management. *Gynecol Oncol.* Серпень 2011;122(2):366–71.
doi:10.1016/j.ygyno.2011.04.033 PubMed PMID: 21571355.
247. Lu L, Katsaros D, Canuto EM, Biglia N, Risch HA, Yu H. LIN-28B/let-7a/IGF-II axis molecular subtypes are associated with epithelial ovarian cancer prognosis. *Gynecol Oncol.* 01, Квітень 2016;141(1):121–7.
doi:10.1016/j.ygyno.2015.12.035
248. Lu L, Katsaros D, Rigault De La Longrais IA, Sochirca O, Yu H. Hypermethylation of let-7a-3 in epithelial ovarian cancer is associated with low insulin-like growth factor-II expression and favorable prognosis. *Cancer Res.* 01, Листопад 2007;67(21):10117–22. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-2544
249. Liu N, Zhong L, Zeng J, Zhang X, Yang Q, Liao D, et al. Upregulation of microRNA-200a associates with tumor proliferation, CSCs phenotype and chemosensitivity in ovarian cancer. *Neoplasma.* 2015;62(4):550–8.
doi:10.4149/neo_2015_066
250. Brozovic A, Duran GE, Wang YC, Francisco EB, Sikic BI. The miR-200 family differentially regulates sensitivity to paclitaxel and carboplatin in human ovarian carcinoma OVCAR-3 and MES-OV cells. *Mol Oncol.* 01, Жовтень 2015;9(8):1678–93. doi:10.1016/j.molonc.2015.04.015
251. Van Jaarsveld MTM, Helleman J, Boersma AWM, Van Kuijk PF, Van Ijcken WF, Despierre E, et al. miR-141 regulates KEAP1 and modulates cisplatin sensitivity in ovarian cancer cells. *Oncogene.* Вересень 2013;32(36):4284–93.
doi:10.1038/onc.2012.433 PubMed PMID: 23045278.

252. Liu J, Zhang X, Huang Y, Zhang Q, Zhou J, Zhang X, et al. mir-200b and mir-200c co-contribute to the cisplatin sensitivity of ovarian cancer cells by targeting DNA methyltransferases. *Oncol Lett.* 01, Лютий 2019;17(2):1453–60. doi:10.3892/ol.2018.9745
253. Cochrane DR, Spoelstra NS, Howe EN, Nordeen SK, Richer JK. MicroRNA-200c mitigates invasiveness and restores sensitivity to microtubule-targeting chemotherapeutic agents. *Mol Cancer Ther.* 01, Травень 2009;8(5):1055–66. doi:10.1158/1535-7163.MCT-08-1046
254. Wang L, Mezencev R, Švajdler M, Benigno BB, McDonald JF. Ectopic over-expression of miR-429 induces mesenchymal-to-epithelial transition (MET) and increased drug sensitivity in metastasizing ovarian cancer cells. *Gynecol Oncol.* Липень 2014;134(1):96–103. doi:10.1016/j.ygyno.2014.04.055
255. Saleh AD, Savage JE, Cao L, Soule BP, Ly D, DeGraff W, et al. Cellular Stress Induced Alterations in MicroRNA let-7a and let-7b Expression Are Dependent on p53. *Kyprianou N, за ред. PLoS ONE.* 11, Жовтень 2011;6(10):e24429. doi:10.1371/journal.pone.0024429
256. Tsang WP, Kwok TT. Let-7a microRNA suppresses therapeutics-induced cancer cell death by targeting caspase-3. *Apoptosis.* Жовтень 2008;13(10):1215–22. doi:10.1007/s10495-008-0256-z
257. Sorrentino A, Liu CG, Addario A, Peschle C, Scambia G, Ferlini C. Role of microRNAs in drug-resistant ovarian cancer cells. *Gynecol Oncol.* Грудень 2008;111(3):478–86. doi:10.1016/j.ygyno.2008.08.017
258. Xiao M, Cai J, Cai L, Jia J, Xie L, Zhu Y, et al. Let-7e sensitizes epithelial ovarian cancer to cisplatin through repressing DNA double strand break repair. *J Ovarian Res.* 04, Квітень 2017;10(1):24. doi:10.1186/s13048-017-0321-8

259. Boyerinas B, Park SM, Murmann AE, Gwin K, Montag AG, Zillhardt M, et al. Let-7 modulates acquired resistance of ovarian cancer to Taxanes via IMP-1-mediated stabilization of multidrug resistance 1. *Int J Cancer*. 15, КВІТЕНЬ 2012;130(8):1787–97. doi:10.1002/ijc.26190
260. Meng X, Müller V, Milde-Langosch K, Trillsch F, Pantel K, Schwarzenbach H. Circulating cell-free miR-373, miR-200a, miR-200b and miR-200c in patients with epithelial ovarian cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2016;924. doi:10.1007/978-3-319-42044-8_1
261. Zuberi M, Mir R, Das J, Ahmad I, Javid J, Yadav P, et al. Expression of serum miR-200a, miR-200b, and miR-200c as candidate biomarkers in epithelial ovarian cancer and their association with clinicopathological features. *Clin Transl Oncol*. 22, ЖОВТЕНЬ 2015;17(10):779–87. doi:10.1007/s12094-015-1303-1
262. Wang K, Zhang S, Weber J, Baxter D, Galas DJ. Export of microRNAs and microRNA-protective protein by mammalian cells. *Nucleic Acids Res*. Листопад 2010;38(20):7248–59. doi:10.1093/nar/gkq601 PubMed PMID: 20615901.
263. Choi PW, Bahrampour A, Ng SK, Liu SK, Qiu W, Xie F, et al. Characterization of miR-200 family members as blood biomarkers for human and laying hen ovarian cancer. *Sci Rep*. 01, ГРУДЕНЬ 2020;10(1). doi:10.1038/s41598-020-77068-0 PubMed PMID: 33208870.
264. Wang W, Wu L rong, Li C, Zhou X, Liu P, Jia X, et al. Five serum microRNAs for detection and predicting of ovarian cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol X*. 01, ЛИПЕНЬ 2019;3:100017. doi:10.1016/j.eurox.2019.100017

265. Zheng H, Zhang L, Zhao Y, Yang D, Song F, Wen Y, et al. Plasma miRNAs as diagnostic and prognostic biomarkers for ovarian cancer. PLoS ONE. Листопад 2013;8(11). doi:10.1371/journal.pone.0077853
266. Meng X, Joosse SA, Müller V, Trillsch F, Milde-Langosch K, Mahner S, et al. Diagnostic and prognostic potential of serum MIR-7, MIR-16, MIR-25, MIR-93, MIR-182, MIR-376a and MIR-429 in ovarian cancer patients. Br J Cancer. 03, Листопад 2015;113(9):1358–66. doi:10.1038/bjc.2015.340
267. Chung YW, Bae HS, Song JY, Lee JK, Lee NW, Kim T, et al. Detection of microRNA as novel biomarkers of epithelial ovarian cancer from the serum of ovarian cancer patients. Int J Gynecol Cancer Off J Int Gynecol Cancer Soc. Травень 2013;23(4):673–9. doi:10.1097/IGC.0b013e31828c166d PubMed PMID: 23542579.
268. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method. Methods San Diego Calif. Грудень 2001;25(4):402–8. doi:10.1006/meth.2001.1262 PubMed PMID: 11846609.
269. Hogan MM, Vogel SN. Measurement of Tumor Necrosis Factor and Lymphotoxins. Curr Protoc Immunol. 03, Квітень 2017;117:6.10.1-6.10.7. doi:10.1002/cpim.23 PubMed PMID: 28369681; PubMed Central PMCID: PMC7301496.
270. Kumar P, Nagarajan A, Uchil PD. Analysis of Cell Viability by the MTT Assay. Cold Spring Harb Protoc. 01, Червень 2018;2018(6). doi:10.1101/pdb.prot095505 PubMed PMID: 29858338.
271. Park SM, Gaur AB, Lengyel E, Peter ME. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2. Genes Dev. 01, Квітень 2008;22(7):894–907.

- doi:10.1101/gad.1640608 PubMed PMID: 18381893; PubMed Central PMCID: PMC2279201.
272. Koutsaki M, Libra M, Spandidos DA, Zaravinos A. The miR-200 family in ovarian cancer. *Oncotarget*. 2017;8(39). doi:10.18632/oncotarget.18343
273. Yavuzsen HT, Altun ZS, Diniz G, Ayaz D, Sayhan S, Çakır İ, et al. Evaluation of MicroRNA Expressions in Ovarian Cancer. *Eurasian J Med Oncol*. 30, Грудень 2022;6(4):4. doi:10.14744/ejmo.2023.79236
274. Sulaiman SA, Ab Mutalib NS, Jamal R. miR-200c Regulation of Metastases in Ovarian Cancer: Potential Role in Epithelial and Mesenchymal Transition. *Front Pharmacol*. 23, Серпень 2016;7. doi:10.3389/fphar.2016.00271
275. Muralidhar GG, Barbolina MV. The miR-200 Family: Versatile Players in Epithelial Ovarian Cancer. *Int J Mol Sci*. Серпень 2015;16(8):8. doi:10.3390/ijms160816833
276. Vescarelli E, Gerini G, Megiorni F, Anastasiadou E, Pontecorvi P, Solito L, et al. MiR-200c sensitizes Olaparib-resistant ovarian cancer cells by targeting Neuropilin 1. *J Exp Clin Cancer Res CR*. 02, Січень 2020;39(1):3. doi:10.1186/s13046-019-1490-7 PubMed PMID: 31898520; PubMed Central PMCID: PMC6939329.
277. Anastasiadou E, Messina E, Sanavia T, Mundo L, Farinella F, Lazzi S, et al. MiR-200c-3p Contrasts PD-L1 Induction by Combinatorial Therapies and Slows Proliferation of Epithelial Ovarian Cancer through Downregulation of β -Catenin and c-Myc. *Cells*. Березень 2021;10(3):3. doi:10.3390/cells10030519
278. Chen L, Gibbons DL, Goswami S, Cortez MA, Ahn YH, Byers LA, et al. Metastasis is regulated via microRNA-200/ZEB1 axis control of tumor cell PD-L1 expression and intratumoral immunosuppression. *Nat Commun*. 28,

- ЖОВТЕНЬ 2014;5:5241. doi:10.1038/ncomms6241 PubMed PMID: 25348003;
PubMed Central PMCID: PMC4212319.
279. Zhang B, Li Y, Li Y, Zhao H, An R. High Expression of MicroRNA-200a/b Indicates Potential Diagnostic and Prognostic Biomarkers in Epithelial Ovarian Cancer. *Dis Markers*. 2022;2022(1):2751696.
doi:10.1155/2022/2751696
280. MiR-200a-3p promoted the malignant behaviors of ovarian cancer cells through regulating PCDH9 - PMC [Інтернет]. [цит. за 20, Квітень 2025].
Доступний у:
https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6790212/?utm_source=chatgpt.com
281. Shell S, Park SM, Radjabi AR, Schickel R, Kistner EO, Jewell DA, et al. Let-7 expression defines two differentiation stages of cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 03, Липень 2007;104(27):11400–5. doi:10.1073/pnas.0704372104
282. Zhang H, Li Y, Lai M. The microRNA network and tumor metastasis. *Oncogene*. 18, Лютий 2010;29(7):937–48. doi:10.1038/onc.2009.406
PubMed PMID: 19935707.
283. Liu L, Li P, Wang Q, Dong C, Guo M, Wang R. Diagnosis accuracy of the miR-200 family tumor marker series in ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis. *Transl Cancer Res*. Липень 2022;11(7). doi:10.21037/tcr-22-864
284. Tommasi C, Pellegrino B, Boggiani D, Sikokis A, Michiara M, Uliana V, et al. Biological Role and Clinical Implications of microRNAs in BRCA Mutation Carriers. *Front Oncol*. 06, Вересень 2021;11.
doi:10.3389/fonc.2021.700853
285. Huang CY, Ye ZH, Huang MY, Lu JJ. Regulation of CD47 expression in cancer cells. *Transl Oncol*. 10, Вересень 2020;13(12):100862.

doi:10.1016/j.tranon.2020.100862 PubMed PMID: 32920329; PubMed Central PMCID: PMC7494507.

286. Chuang CH, Zhen YY, Ma JY, Lee TH, Hung HY, Wu CC, et al. CD47-mediated immune evasion in early-stage lung cancer progression. *Biochem Biophys Res Commun.* 06, СЕРПЕНЬ 2024;720:150066.
doi:10.1016/j.bbrc.2024.150066 PubMed PMID: 38749193.
287. Negeem Z, Abdel Moneim A, Mahmoud B, Ahmed AE, Abd El-Hameed AM, Eskandrani AA, et al. The implication of miR-200a and miR-132 expression and their correlations with NF- κ B/TNF-alpha signaling in adults with diabetic nephropathy. *Saudi J Biol Sci.* ТРАВЕНЬ 2024;31(5):103975.
doi:10.1016/j.sjbs.2024.103975 PubMed PMID: 38544953; PubMed Central PMCID: PMC10966293.
288. Yu J, Chen J, Yang H, Chen S, Wang Z. Overexpression of miR-200a-3p promoted inflammation in sepsis-induced brain injury through ROS-induced NLRP3. *Int J Mol Med.* Листопад 2019;44(5):1811–23.
doi:10.3892/ijmm.2019.4326 PubMed PMID: 31485604; PubMed Central PMCID: PMC6777670.
289. Chen WC, Chang TC, Chou HH, Cheng MH, Hong JJ, Hsieh YS, et al. Peritoneal Fluid Analysis of Advanced Ovarian Cancers after Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy. *Int J Mol Sci.* 05, ЧЕРВЕНЬ 2023;24(11):9748.
doi:10.3390/ijms24119748 PubMed PMID: 37298699; PubMed Central PMCID: PMC10253890.
290. Norquist BM, Brady MF, Harrell MI, Walsh T, Lee MK, Gulsuner S, et al. Mutations in Homologous Recombination Genes and Outcomes in Ovarian Carcinoma Patients in GOG 218: An NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group Study. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15, Лютый

2018;24(4):777–83. doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-1327 PubMed PMID: 29191972; PubMed Central PMCID: PMC5815909.

291. Cancer Network [Интернет]. 2018 [цит. за 17, Серпень 2025]. HIPEC Increases Survival in Advanced Ovarian Cancer Over Surgery Alone. Доступний у: <https://www.cancernetwork.com/view/hipec-increases-survival-advanced-ovarian-cancer-over-surgery-alone>
292. Full article: Long-term survival in patients with epithelial ovarian cancer following cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) [Интернет]. [цит. за 17, Серпень 2025]. Доступний у: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/02656736.2018.1518544>
293. A large 10-year series from a single-site institution in the United Kingdom of vulva carcinoma: An audit on adherence of United Kingdom guidelines and overall survival. | Journal of Clinical Oncology [Интернет]. [цит. за 17, Серпень 2025]. Доступний у: https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.e17572
294. El Kassis N, Jerbaka M, Abou Chakra R, El Hadi C, Arab W, El Hajj H, et al. An Updated Meta-Analysis on Long-Term Outcomes Following Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy in Advanced Ovarian Cancer. *Cancers*. Січень 2025;17(9):1569. doi:10.3390/cancers17091569
295. Curetoday [Интернет]. 2025 [цит. за 17, Серпень 2025]. HIPEC May Not Improve Outcomes for Recurrent Epithelial Ovarian Cancer. Доступний у: <https://www.curetoday.com/view/hipec-may-not-improve-outcomes-for-recurrent-epithelial-ovarian-cancer>
296. Filis P, Mauri D, Markozannes G, Tolia M, Filis N, Tsilidis K. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) for the management of primary advanced and recurrent ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis

of randomized trials. *ESMO Open*. 01, ЖОВТЕНЬ 2022;7(5).
doi:10.1016/j.esmoop.2022.100586 PubMed PMID: 36116421.

297. *Frontiers | Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy and Cytoreductive Surgery in Ovarian Cancer: An Umbrella Review of Meta-Analyses* [Інтернет]. [цит. за 17, Серпень 2025]. Доступний у:
<https://www.frontiersin.org/journals/oncology/articles/10.3389/fonc.2022.809773/full>
298. Koole SN, Kieffer JM, K Sikorska null, Schagen van Leeuwen JH, Schreuder HWR, Hermans RH, et al. Health-related quality of life after interval cytoreductive surgery with or without hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) in patients with stage III ovarian cancer. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol*. Січень 2021;47(1):101–7. doi:10.1016/j.ejso.2019.05.006 PubMed PMID: 31128948.
299. Koole SN, Schouten PC, Hauke J, Kluin RJC, Nederlof P, Richters LK, et al. Effect of HIPEC according to HRD/wt genomic profile in stage III ovarian cancer: Results from the phase III OVHIPEC trial. *Int J Cancer*. 2022;151(8):1394–404. doi:10.1002/ijc.34124
300. Ghirardi V, De Felice F, D’Indinosante M, Bernardini F, Giudice MT, Fagotti A, et al. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) after primary debulking surgery in advanced epithelial ovarian cancer: Is BRCA mutational status making the difference? *Cancer Treat Res Commun*. 2022;31:100518. doi:10.1016/j.ctarc.2022.100518 PubMed PMID: 35065323.
301. Bhatt A, Glehen O. The role of Cytoreductive Surgery and Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy (HIPEC) in Ovarian Cancer: A Review. *Indian J Surg Oncol*. 01, Червень 2016;7(2):188–97. doi:10.1007/s13193-016-0501-9

302. Bakrin N, Bereder JM, Decullier E, Classe JM, Msika S, Lorimier G, et al. Peritoneal carcinomatosis treated with cytoreductive surgery and Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy (HIPEC) for advanced ovarian carcinoma: A French multicentre retrospective cohort study of 566 patients. *Eur J Surg Oncol.* Грудень 2013;39(12):1435–43.
doi:10.1016/j.ejso.2013.09.030

ДОДАТОК 1

Список публікацій

5. Yarema, R., Ferneza, S. and Fetsych, T., 2021. HIPEC в комбінованому лікуванні інтраперитонеально дисемінованого раку: моноцентровий досвід проведення 215 операцій. Клінічна онкологія. 2021 Jul 09. DOI: 10.32471/clinicaloncology.2663-466X.41-1.27758
(Здобувач проводив збір матеріалу, брав участь у клінічних дослідженнях, статистичному аналізі, опрацюванні та узагальненні отриманих даних, сформулював висновки роботи та підготував статтю до друку. Співавтори надавали консультативну допомогу).
6. Ferneza S, Fetsych M, Shuliak R, Makukh H, Volodko N, Yarema R, Fetsych T. Clinical significance of microRNA-200 and let-7 families expression assessment in patients with ovarian cancer. *ecancer*. 2021 Jun 14; 15 (1249). DOI: 10.3332/ecancer.2021.1249, Q3
7. Fetsych M, Igumentseva N, Ferneza S, Yarema R, Volodko N. CYTOKINE-MODULATING INFLUENCE OF HIPEC ON THE INTRAPERITONEAL HOMEOSTASIS FORMATION IN PATIENTS WITH OVARIAN CANCER. *Proceeding Shevchenko Sci Soc Med Sci*. 22, Грудень 2023;72.
8. Hrytsay I, Mazur Y, Ferneza S, Sulaieva O, Volodko N. IMPLEMENTATION OF MOLECULAR PROFILING IN THE DIAGNOSIS AND TREATMENT PLANNING OF PATIENTS WITH ADVANCED OVARIAN CANCER. *Proceeding Shevchenko Sci Soc Med Sci*. 28, Червень 2024;73(1).

ДОДАТОК 2**Наукові праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації**

- Фернеза С.Р., Володько Н.А. «Клінічні аспекти визначення експресії родини мікроРНК-200 у пацієнток з раком яєчників». Науково-практична конференція з міжнародною участю: «Гнатишаківські читання 2022: мультидисциплінарний підхід в комбінованому лікуванні раку яєчників», 25-26 лютого 2022 (стендова доповідь)
- С.Р. Фернеза, Р.Р. Ярема, Г.В. Макух, Н.А. Володько. «Клінічні аспекти визначення експресії сімейств мікроРНК-200 та let-7 у пацієнток з раком яєчників». Науково-практична конференція молодих вчених «Сучасна онкологія: від фундаментальних досліджень до нових терапевтичних підходів», т.23 4 2021 12-13 жовтня 2021, Київ (публікація тез)

ДОДАТОК 3

Гістологічна класифікація пухлин яєчника WHO (2014)

| Класифікація | Тип пухлини | Приклади/Підтипи | Клінічні особливості |
|------------------------------|-----------------------|------------------------------------|--|
| Епітеліальні пухлини | Серозні | - Низькодиференційовані | Найпоширеніший тип, часто асоціюється з |
| | | - Високодиференційовані | BRCA1/2 мутаціями. |
| | Муцинозні | - Високодиференційовані | Рідкісні, іноді схожі на метастази з шлунково- |
| | | - Низькодиференційовані | кишкового тракту. |
| | Ендо метріоїдні | - | Часто асоціюються з ендометріозом, |
| | | Високодиференційовані | можуть бути гормонально активними. |
| Світлоклітинні | - | Асоціюються з ендометріозом, часто | |
| | Високодиференційовані | хіміорезистентні. | |
| Перехідноклітинні (Бреннера) | - | Доброякісні Зустрічаються | |
| | - | Погано- або злоякісні рідко, мають | |

| Класифікація | Тип пухлини | Приклади/Підтипи | Клінічні особливості |
|----------------------------------|----------------------|---|---|
| Стромальні пухлини | Гранульозоклітинні | - Дорослий тип - Ювенільний тип | перехідноепітеліальні риси. Часто продукують естроген, можуть спричиняти гіперплазію ендометрію. |
| | Текаклітинні | - Доброякісні | Гормонально активні, рідко злоякісні. |
| | Андробластоми | - Доброякісні - Помірно андрогени, диференційовані | Можуть продукувати спричиняючи вірилізацію. |
| | Гермінаційні пухлини | Дисгерміноми | - Доброякісні - Злоякісні |
| Ембріональні карциноми | | - Рідкісні | Агресивні, але піддаються хіміотерапії. |
| Зрілі тератоми (дермоїдні кісти) | | - Доброякісні | Найпоширеніший тип пухлин яєчника у молодих жінок. |
| Незрілі тератоми | | - Злоякісні | Більш агресивні, ніж зрілі тератоми. |

| Класифікація | Тип пухлини | Приклади/Підтипи | Клінічні особливості |
|-----------------------------|--------------------------|-------------------------|---|
| я | Пухлина жовткового мішка | - Злоякісні | Продукують альфа-фетопротеїн, частіше у дітей. Метастази 3 |
| Метастатичні пухлини | Метастатичні карциноми | - Крукенберзькі пухлини | шлунково-кишкового тракту або молочної залози. |

Ця класифікація допомагає у виборі лікування, прогнозі та розумінні біологічної поведінки

ДОДАТОК 4

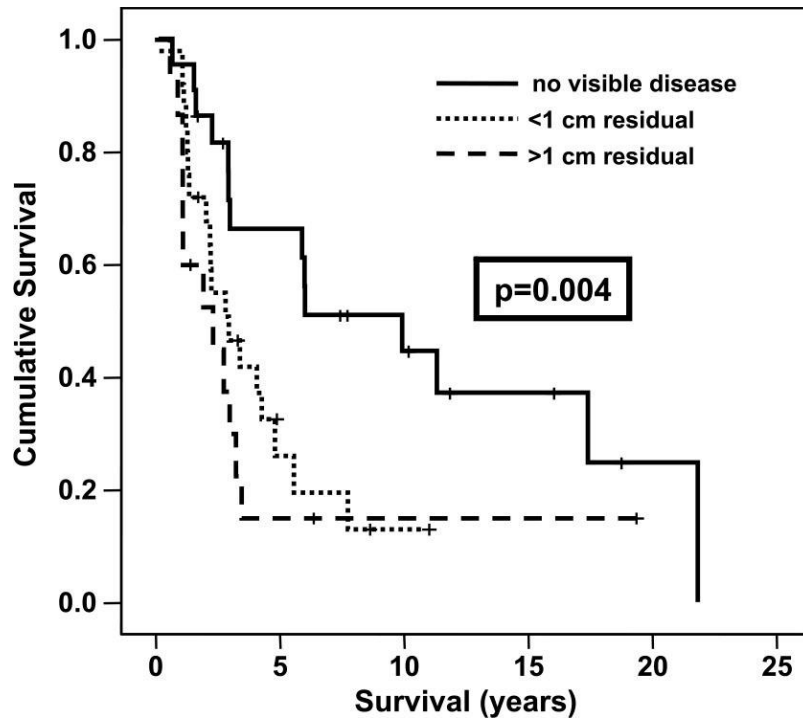
FIGO класифікація РЯ

Стадія Підстадія Опис

| | | |
|-------------|---|--|
| I | IA | Пухлина обмежена одним яєчником або фаллопієвою трубою, без асцити. |
| | IB | Пухлина вражає обидва яєчники або обидві фаллопієві труби, без асцити. |
| | IC | Пухлина обмежена яєчниками/трубами, але з додатковими ускладненнями: |
| | IC1 | Інтраопераційна розрив пухлини. |
| | IC2 | Капсула розірвана до операції або пухлина на поверхні. |
| | IC3 | Виявлення злоякісних клітин у перитонеальній рідині або асциті. |
| II | IIA | Поширення на матку та/або фаллопієві труби. |
| | IIB | Поширення на інші тазові тканини. |
| III | IIIA | Мікроскопічні метастази за межами таза. |
| | IIIA1 | Метастази в ретроперитонеальних лімфовузлах: |
| | IIIA1(i) | Метастази ≤ 10 мм. |
| | IIIA1(ii) | Метастази > 10 мм. |
| | IIIA2 | Макроскопічні метастази поза тазом, ≤ 2 см у діаметрі. |
| IIIB | Макроскопічні метастази поза тазом, > 2 см, але ≤ 5 см у діаметрі. | |
| IIIC | Макроскопічні метастази > 5 см або залучення капсули печінки/селезінки. | |
| IV | IVA | Плевральний випіт зі злоякісними клітинами. |
| | IVB | Віддалені метастази (печінка, селезінка, лімфовузли поза черевною порожниною). |

ДОДАТОК 5

Порівняння загальної виживаності у пацієток повною циторедукцією (no visible disease), резидуальною пухлиною <1 см та резидуальною пухлиною >1 см [47]



ДОДАТОК 6

Порівняння безрецидивної виживаності у пацієток повною циторедукцією (no visible disease), резидуальною пухлиною <1 см та резидуальною пухлиною >1 см [47]

