

УДК 618.11-006-091.8+577.12:611-018-076

DOI <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2023-4-7>

Р. А. Чижма <https://orcid.org/0000-0002-7997-6481>
Р. А. Москаленко <https://orcid.org/0000-0002-2342-0337>

ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РАКУ ЯЄЧНИКІВ З ПАТОЛОГІЧНОЮ БІОМІНЕРАЛІЗАЦІЄЮ

Сумський державний університет, Суми, Україна

УДК 618.11-006-091.8+577.12:611-018-076

Р. А. Чижма, Р. А. Москаленко

ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РАКУ ЯЄЧНИКІВ З ПАТОЛОГІЧНОЮ БІОМІНЕРАЛІЗАЦІЄЮ

Сумський державний університет, Суми, Україна

Стаття присвячена дослідженню імуногістохімічних особливостей раку яєчників з патологічною біомінералізацією, оскільки рак яєчників є найпоширенішим онкогінекологічним захворюванням, а кальцифікація пухлинної тканини є однією з клінічних особливостей прояву цієї патології. На основі проведених досліджень було встановлено достовірно вищу експресію OPN ($p < 0.001$) та нижчу експресію SPARC ($p < 0.01$) у тканині раку яєчників з патологічною біомінералізацією. Аналіз отриманих результатів експресії OPG та RANKL не виявив достовірної різниці між групою I та II. Також рівень експресії CD68 достовірно не відрізнявся в обох групах, що показує відсутність впливу кальцифікації на цей показник. Водночас експресія Casp3 у групі раку яєчників з патологічною біомінералізацією була вищою ($p < 0.05$). Цей факт може свідчити про стимулювальний вплив біомінеральних депозитів на інтенсивність апоптозу у пухлинній тканині. Цей феномен заслуговує на подальше більш детальне вивчення.

Ключові слова: рак яєчників, імуногістохімічне дослідження, маркери, каспаза-3, CD68.

UDC 618.11-006-091.8+577.12:611-018-076

R. A. Chyzhma, R. A. Moskalenko

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF OVARIAN CANCER WITH PATHOLOGICAL BIOMINERALIZATION

Sumy State University, Sumy, Ukraine

Ovarian cancer (OC) is the most common gynecological oncological disease, ranking third after body and cervical cancer. Pathological biomineralization (calcification) is one of the clinical manifestations of ovarian cancer. Calcification is characteristic of serous adenocarcinoma and is presented as psammoma bodies (PB). Calcification develops in the early stages of the tumor process.

The aim is to study the immunohistochemical features of OC tissue with pathological biomineralization.

Materials and methods. We examined 30 ovarian cancer samples with pathological biomineralization (group I) and 30 without pathological biomineralization (group II). All samples were examined histologically and immunohistochemically using OPN, OPG, RANKL, SPARC, Casp3, and CD68.

Results. An immunohistochemical study revealed a higher expression of OPN in group I (73.34 ± 4.25 cells in the field of view with a diameter of 1 mm) compared to group II (26.93 ± 1.88 cells in the field of view), $p < 0.001$. OPG expression was 63.07 ± 3.52 and 58.57 ± 3.54 cells in the field of view for groups I and II, respectively. A positive reaction to RANKL was detected in 56.37 ± 3.30 cells in the field of view with a diameter of 1 mm for group I and in 54.52 ± 3.49 cells in the field of view for group II. No significant difference was found when analyzing the expression of OPG and RANKL. SPARC expression was lower in group I (48.32 ± 3.26 cells in the field of view with a diameter of 1 mm) compared to group II (63.19 ± 3.39 cells in the field of view), $p < 0.01$. CD68 expression in group I was 52.44 ± 3.37 cells in the field of view with a diameter of 1 mm; in group II – 60.87 ± 3.14 cells in the field of view, without a significant difference according to the Student's test. In addition, the expression of Casp3 in I was higher (57.31 ± 2.97 cells in the field of view, $p < 0.05$). This fact may indicate the stimulating effect of biomineral deposits on the intensity of apoptosis in tumor tissue. This phenomenon deserves a more detailed study.

Key words: ovarian cancer, immunohistochemistry, markers, caspase-3, CD68.

Вступ. Рак яєчників (РЯ) є найпоширенішим онкогінекологічним захворюванням, яке посідає третє місце після раку тіла та шийки матки. У 2022 році було зареєстровано 3172 нових випадків раку яєчників в Україні, цей показник зростає порівняно з 2021 роком на 1,3%. Загальна кількість смертей від даної патології за 2022 рік складала 1555 випадків [1, 2]. Високий показник смертності зумовлений безсимптомним перебігом та відсутнім належним скринінгом захворювання, внаслідок чого РЯ діагностується на пізніх стадіях захворювання із симптоматичним проявом метастатичного ураження того чи іншого органа [3]. Однією з особливостей РЯ є унікальна поведінка метастатичного

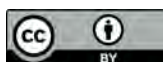
процесу даного захворювання [4], оскільки вона відрізняється від класичної моделі гематогенного метастазування, яка притаманна більшості типів раку тієї чи іншої локалізації. Водночас пухлини яєчника метастазують так званним пасивним шляхом [5].

Одним із клінічних проявів раку яєчників є патологічна біомінералізація (ПБМ) або кальцифікація, яка притаманна здебільшого серозним аденокарциномам та представлена у вигляді псаммомних тілець (ПТ). Відкладення біомінеральних депозитів починається ще на ранніх етапах пухлинного процесу. Встановлено, що наявність біомінеральних утворень при раку яєчників сприяє зростанню показників 5-річної виживаності [6].

Важливу роль у пухлинному процесі відіграє пухлинне мікрооточення, оскільки воно може безпосередньо впливати на перебіг, прогноз цього захворювання та протипухлинний імунітет. Пухлинне мікроото-

© Р. А. Чижма, Р. А. Москаленко, 2023

Стаття поширюється на умовах ліцензії



чення являє собою сукупність клітинних компонентів [7]. По-перше, це ендотеліальні клітини, які мають ключове значення у розвитку пухлинного процесу та захисті пухлинних клітин від імунної системи. Другим основним компонентом є імунні клітини. До них належать гранулоцити, лімфоцити та макрофаги. Вони беруть участь у запальних реакціях, спровокованих самою пухлиною для її виживання [8, 9].

Метою нашої роботи є визначення імуногістохімічних особливостей тканини РЯ з патологічною біомінералізацією.

Матеріали та методи дослідження. Проведене дослідження було схвалене етичним комітетом Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету (протокол № 1/12, 08.12.2022 р.). Ми дослідили 30 зразків раку яєчників з ознаками біомінералізації (група I) та 30 зразків раку яєчників без ознак патологічної біомінералізації (група II). Усі зразки були досліджені гістологічно та імуногістохімічно, представлені у вигляді хірургічного матеріалу після пангістеректомії та оваріоектомії на базі гінекологічних відділень Сумського обласного онкологічного центру та Сумської міської клінічної лікарні № 1.

Гістологічне дослідження. Матеріал пухлинної тканини фіксували у забуференому розчині формальдегіду (4 %) протягом 24 годин. Після проведеного зневоднення та насичення парафіном були виготовлені гістологічні блоки. Гістологічні (серійні) зрізи товщиною 4 мкм зроблені за допомогою мікротома (роторного) Shandon Finesse 325. Після депарафінації та дегідратації зрізи пухлинної тканини раку яєчників забарвлювали гематоксилін-еозином. Даний метод дослідження застосовувався для верифікації гістологічного типу та подальшого формування груп.

Імуногістохімічне дослідження. Застосовано непрямий імунопероксидазний метод імуногістохімічного дослідження. Було проведено демаскування антигенів депарафінованих гістологічних зрізів у цитратному буфері з рН 6.0 та дотриманням температурного режиму 95-98°C. Візуалізація імуногістохімічної реакції була проведена з використанням системи детекції «Ultra Vision Quanto Detection System HRP Polymer» та «DAB Quanto Detection System» (Thermo Scientific, USA). Була використана така панель антитіл: OPN (*Anti-Osteopontin antibody, ab 37807*, розведення 1:300), OPG (*Anti-Osteoprotegerin antibody, ab 203061*, розведення 1:300), Casp3 (*Anti-Cleaved Caspase-3 antibody, ab 32042*, розведення 1:250), SPARC (*Anti-SPARC antibody, ab 203284*, розведення 1:300), RANKL (*Anti-RANKL antibody, ab 239607*, розведення 1:100) (Abcam, Cambridge, Велика Британія). Ядра контрастовані за допомогою гематоксиліну Майєра.

Результати.

Гістологічне дослідження.

Досліджувані зразки групи I та II характеризувались мікро- та макропапілярними розростаннями, поодинокими клітинами та хаотично сформованими невеликими гніздами клітин з інфільтрацією стромы. Пухлинні клітини були мономорфними, невеликого розміру, мали помірну атипію ядер та виражене ядерце (рис. 1 А, В). У групі I наявні патологічні біомінерали, які переважно локалізувались в основі папілярних розростань раку яєчників та детриті пухлинної тканини. Значна кількість біомінералів знаходилася у товщі сполучної тканини пухлинних вузлів, а також при-

леглої інтактної тканини яєчників. Виявлялись у вигляді як поодиноких утворень, так і скупчень, а також рівномірного «висіювання» по всій пухлинній тканині. Навколо патологічних біомінералів візуалізувались залишки судинних стінок капілярів. Часто біомінеральні депозити були представлені концентричними кальцифікованими структурами та їхніми уламками неправильної форми, що відповідало структурі псаммомних тілець. Уламки утворювались за рахунок механічного пошкодження мікротомним ножом під час проведення етапів гістотехнічного приготування мікропрепаратів (рис. 1 А).

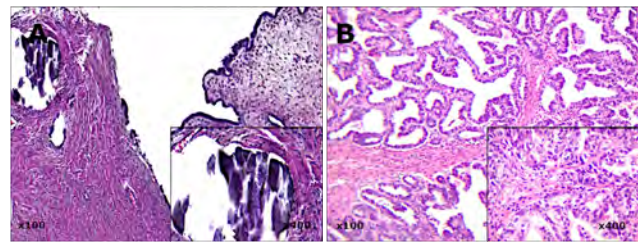


Рис. 1. Гістологічне дослідження раку яєчників (А) – з патологічною біомінералізацією та (В) – без ознак патологічної біомінералізації. Забарвлення гематоксиліном та еозином. У нижніх кутах вказано збільшення кожного зображення

Імуногістохімічне дослідження.

При використанні антитіла проти OPN в імуногістохімічному дослідженні раку яєчників встановлено виражену цитоплазматичну експресію у клітинах пухлинного мікрооточення, переважно моноклерної та фібробластоподібної морфології. Також було виявлено накопичення OPN в біомінеральних утвореннях із більш вираженою реакцією по краях та помірно вираженою по центру біомінералу. Отже, експресія OPN у групі раку яєчників з патологічною біомінералізацією складала 73.34 ± 4.25 клітин у полі зору діаметром 1 мм та у групі без патологічної біомінералізації 26.93 ± 1.88 клітин у полі зору (рис. 2 А, В).

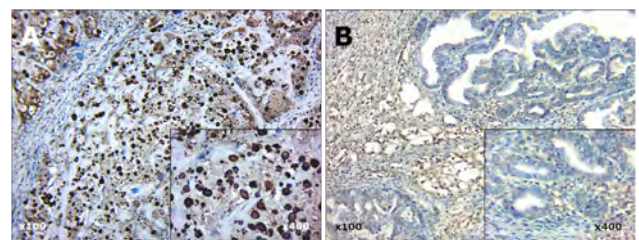


Рис. 2. Імуногістохімічне дослідження експресії OPN у тканині раку яєчників (А) – з патологічною біомінералізацією та (В) – без ознак патологічної біомінералізації. У нижніх кутах вказано збільшення кожного зображення

Під час проведення імуногістохімічного дослідження зразків тканини раку яєчників відмічалась помірно виражена цитоплазматична експресія OPG пухлинними клітинами. Реакція OPG в пухлинному мікрооточенні була помірно виражена із позитивно забарвленими клітинами запального інфільтрату. Експресія OPG у першій групі складала 63.07 ± 3.52 клітин у полі зору діаметром 1 мм, в другій – 58.57 ± 3.54 клітин у полі зору (рис. 3 А, В).

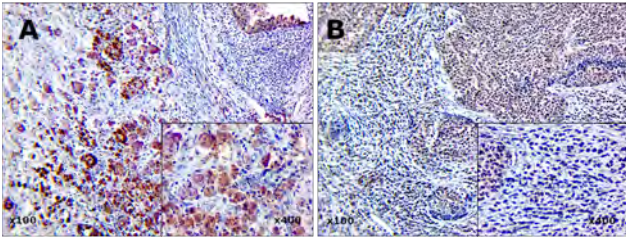


Рис. 3. Імуногістохімічне дослідження експресії OPG у тканині раку яєчників (А) – з патологічною біомінералізацією та (В) – без ознак патологічної біомінералізації. У нижніх кутах вказано збільшення кожного зображення.

При використанні антитіла проти RANKL в імуногістохімічному дослідженні раку яєчників встановлено низьку експресію пухлинними клітинами та клітинами пухлинного мікрооточення. Позитивна реакція спостерігалась переважно в клітинах запального інфільтрату та на периферії поодиноких біомінеральних утворень. Експресія RANKL в тканині раку яєчників групи I складала 56.37 ± 3.30 клітин у полі зору діаметром 1 мм, у групі II цей показник сягав 54.52 ± 3.49 клітин у полі зору (рис. 4 А, В).

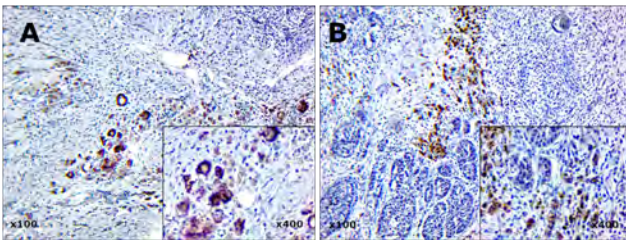


Рис. 4. Імуногістохімічне дослідження експресії RANKL у тканині раку яєчників (А) – з патологічною біомінералізацією та (В) – без ознак патологічної біомінералізації. У нижніх кутах вказано збільшення кожного зображення

Використання антитіла проти SPARC показало помірно виражену експресію пухлинними клітинами тканини раку яєчників. Встановлено виражену позитивну реакцію клітинами пухлинного мікрооточення та запального інфільтрату. Тканина раку яєчників першої групи мала експресію SPARC в 48.32 ± 3.26 клітин у полі зору діаметром 1 мм, а в другій групі – 63.19 ± 3.39 клітин у полі зору (рис. 5 А, В).

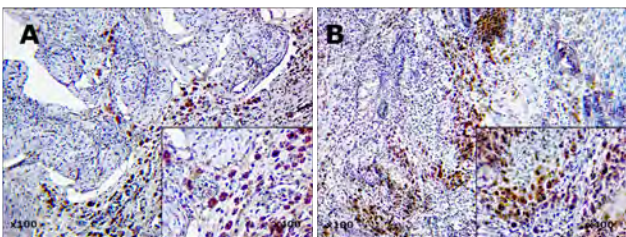


Рис. 5. Імуногістохімічне дослідження експресії SPARC у тканині раку яєчників (А) – з патологічною біомінералізацією та (В) – без ознак патологічної біомінералізації. У нижніх кутах вказано збільшення кожного зображення

Імуногістохімічне дослідження зразків раку яєчників з використанням антитіла проти Casp3 продемон-

струвало виражену позитивну реакцію в клітинах пухлинного мікрооточення (моноклеарної морфології та фібробластоподібних клітинах). У поодиноких випадках спостерігалось незначне накопичення даного білка навколо біомінеральних утворень та на їх поверхні. Тканина раку яєчників групи I мала позитивну реакцію до Casp3 у 57.31 ± 2.97 клітин у полі зору діаметром 1 мм, а в групі II – 47.07 ± 2.99 клітин у полі зору (рис. 6 А, В).

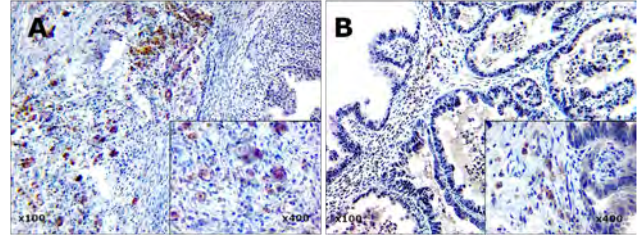


Рис. 6. Імуногістохімічне дослідження експресії Casp3 у тканині раку яєчників (А) – з патологічною біомінералізацією та (В) – без ознак патологічної біомінералізації. У нижніх кутах вказано збільшення кожного зображення

Спостерігалась виражена експресія у макрофагах пухлинного мікрооточення тканини раку яєчників при використанні антитіла проти CD68. Дані макрофаги локалізувались у клітинах строми пухлинної тканини та навколо біомінеральних утворень. Позитивна реакція до CD68 складала 52.44 ± 3.37 клітин раку яєчників у полі зору діаметром 1 мм в групі I та 60.87 ± 3.14 клітин у полі зору групи II (рис. 7 А, В).

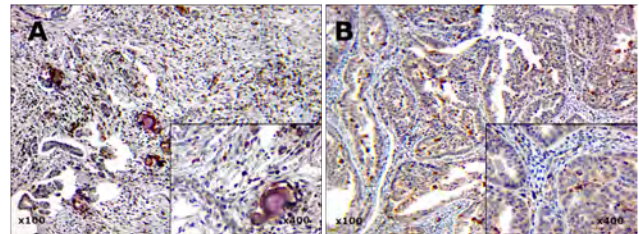


Рис. 7. Імуногістохімічне дослідження експресії CD68 у тканині раку яєчників (А) – з патологічною біомінералізацією та (В) – без ознак патологічної біомінералізації. У нижніх кутах вказано збільшення кожного зображення

Обговорення. Онкогенні процеси в поєднанні зі сприятливим середовищем є основними факторами пухлинного процесу. Мікрооточення пухлини складається із так званої складної мережі протагоністів, включаючи цитокіни, компоненти позаклітинного матриксу, які взаємодіють з ендотеліальними, імунними клітинами та фібробластиами [10]. Така взаємодія відбувається з різними типами специфічних клітин залежно від локалізації пухлинного процесу. Ця різноманітність визначає так звані специфічні «ніші», такі як імунні, судинні, кісткові, які безпосередньо залучені до пухлинного росту, інвазивності процесу та метастазування [11].

Епітеліально-мезенхімальний перехід (ЕМП) – це процес, під час якого клітини зазнають трансформації від

епітеліального до мезенхімального фенотипу. Оскільки пухлинні клітини набувають здатності до інвазивності та міграції через процеси ЕМП, ЕМП є передумовою метастазування [12]. Також метастазування може бути остеотропним за рахунок трансформації між пухлинними клітинами та клітинами кісткової стромы, диференціації мезенхімальних стовбурових клітин у остеобласти та остеобласти (клітини остеобластичного фенотипу). У літературі описаний зв'язок остеотропності метастазів передміхурової залози та грудної залози з патологічною біомінералізацією [13]. Оскільки у разі раку яєчників також наявна патологічна біомінералізація, то нами було проведено імуногістохімічне дослідження з метою визначення остеобластичного фенотипу пухлинних клітин та метастатичного потенціалу раку яєчників з патологічною біомінералізацією. У імуногістохімічному дослідженні було використано панель маркерів, таких як OPN, OPG, RANKL, SPARC та Casp3, CD68.

OPN – глікофосфопротеїн, який секретується в організмі остеобластами, гладкими м'язовими та епітеліальними клітинами. Також експресується в надмірній кількості пухлинними клітинами при злоякісних новоутвореннях молочної залози, шийки матки, яєчників, передміхурової залози та колоректального раку. OPN може сприяти росту пухлини за рахунок активації сигнального шляху PI3K/AKT/HIF-1 α . Цим самим OPN приймає безпосередню участь у прогресуванні пухлинного процесу, наприклад інвазивності, ангіогенезу та метастазуванні то чи іншого злоякісного процесу [14].

Середній показник експресії OPN у групі I (рак яєчників з біомінералізацією) вищий порівняно з групою II (рак яєчників без біомінералізації) майже в 3 рази і становить 73.34 ± 4.25 та 26.93 ± 1.88 клітин у полі зору діаметром 1 мм відповідно. Встановлено достовірну різницю між даними показниками за критерієм Стьюдента ($p < 0.001$) (рис. 8). Отже, результати імуногістохімічного дослідження свідчать про участь OPN у процесах розвитку та формування патологічної біомінералізації.

OPG – секретований білок факторів некрозу пухлинних клітин, який зв'язується з рецепторним активатором ліганду NF κ B (RANKL) та функціонує в якості так званого розчинного фактора-приманки для RANKL. Відомо, що OPG може мати антиапоптичний ефект на стадіях метастазування. Також встановлено, що асцит при злоякісних новоутвореннях яєчників безпосередньо впливає на пухлинні клітини, сприяючи їх росту, інвазивності процесу, цим самим відображаючись на виживаності самих клітин. Крім того, високі рівні OPG при злоякісному асциті пов'язані з меншою тривалістю життя без прогресування раку яєчників [15]. Однак у процесі імуногістохімічного дослідження нами не було встановлено значної різниці в експресії OPG першої та другої групи, показник складав 63.07 ± 3.52 та 58.57 ± 3.54 клітин у полі зору відповідно, без достовірної різниці за критерієм Стьюдента (рис. 8). На основі отриманих даних встановлено, що патологічна біомінералізація не має безпосереднього впливу на рівень експресії OPG клітинами раку яєчників.

RANK/RANKL/OPG – система, яка відіграє важливу роль у пухлиноутворенні, а експресія пухлинними

клітинами RANK/RANKL корелює з метастазуванням та прогресуванням пухлинного процесу. Водночас OPG своїм N-кінцем блокує взаємодію RANK/RANKL та сигнальні шляхи, індуковані RANKL [16]. При проведенні імуногістохімічного дослідження нами було встановлено експресію RANKL у першій (56.37 ± 3.30 клітин у полі зору діаметром 1 мм) та другій (54.52 ± 3.49 клітин у полі зору) досліджуваних групах без достовірної різниці за критерієм Стьюдента (рис. 8). Отже, дані результати свідчать, що патологічна біомінералізація не має безпосереднього впливу на рівень експресії RANKL. Також варто підкреслити вищезазначені результати стосовно експресії OPG та аналогічну відсутність у взаємодії з біомінералізацією, оскільки обидва маркери працюють в системі RANK/RANKL/OPG та мають певну залежність один від одного.

SPARC – секреторний білок, збагачений цистеїном, експресується пухлинами з високою метастатичною активністю. SPARC пригнічує активність EGF при злоякісних новоутвореннях яєчників та може активувати GSK3 β -мішені в адипоцитах, діючи як пухлинний супресор. Зниження даного білка при раку яєчників сприяє прогресуванню пухлинного процесу [17]. У нашому дослідженні експресія SPARC у тканині раку яєчників з патологічною біомінералізацією була нижчою порівняно з групою без патологічної біомінералізації та складала 48.32 ± 3.26 та 63.19 ± 3.39 клітин у полі зору відповідно, з достовірною різницею за критерієм Стьюдента ($p < 0.01$) (рис. 6). Отже, на основі даного дослідження можна сказати, що патологічна біомінералізація має безпосередній зв'язок із SPARC. Однак рівень експресії SPARC у зразках раку яєчників без патологічної біомінералізації був вищий – це може свідчити про те, що патологічні біомінерали не беруть участі в розвитку хронічного запалення у пухлинній тканині та регуляції фіброзу.

Casp3 – ключовий фермент апоптозу клітин, який відіграє безпосередню роль у злоякісних пухлинних процесах та їх прогресуванні. Feng та співав. у своїх дослідженнях продемонстрували, що Casp3 сприяє росту пухлини шляхом створення мікрооточення, яке сприяє ангіогенезу. Також варто зауважити, що Casp3 сприяє епітеліально-мезенхімальному переходу, що є один із ключових факторів метастазування [18]. У нашому дослідженні рівень експресії Casp3 був вищим у групі I та складав 57.31 ± 2.97 клітин у полі зору діаметром 1 мм, а в групі II – 47.07 ± 2.99 клітин у полі зору з достовірною різницею за критерієм Стьюдента ($p < 0.05$) (рис. 8). Зазначені результати можуть свідчити про взаємозв'язок Casp3 з процесами формування та розвитку патологічної біомінералізації, а також мати прогностичне значення в перебігу даного захворювання.

Пухлинно-асоційовані макрофага (ПАМ) є важливим фактором росту пухлинних клітин та прогресування даного процесу. Виділяють 2 типи макрофагів, такі як M1- та M2-подібні. M1-подібні макрофаги характеризуються виділенням вільних радикалів, цим самим призводячи до пошкодження ДНК з подальшим сприянням пухлинній активності. M2-подібні макрофаги сприяють пухлинному росту та метастатичному процесу шляхом

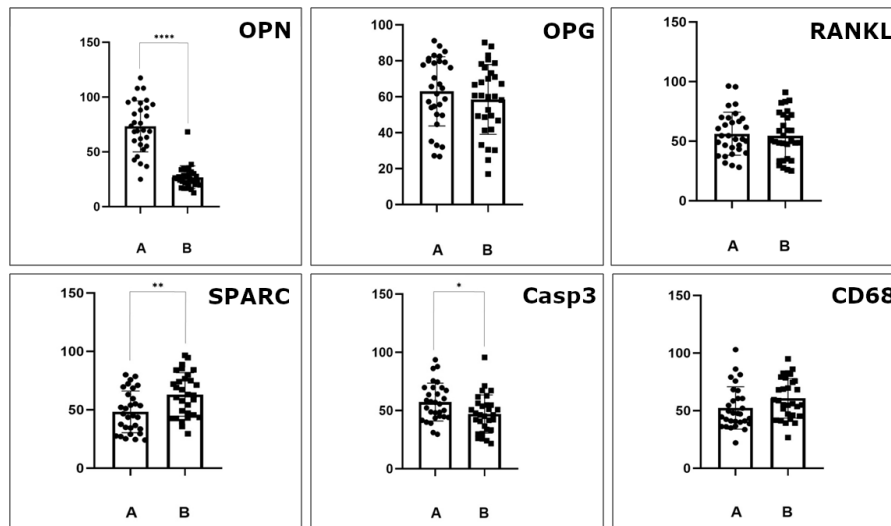


Рис. 8. Імуногістохімічне дослідження тканини раку яєчників (А) – з патологічною біомінералізацією та (В) – без патологічної біомінералізації. Середнє значення позначає стовпчик, 95 % інтервал достовірності – бар (**** – $p < 0.001$, ** – $p < 0.01$, * – $p < 0.05$)

вивільнення хемокінів, які є безпосередніми факторами запального процесу [19]. На клітинному рівні ПАМ мають властивість функціональної пластичності, тобто можуть приймати різноманітні про- та/або протизапальні функції залежно від мікрооточення та взаємопов'язаних стимулів. Експресія CD 68 характерна як для M1, так і для M2-подібних макрофагів та має протизапальну та протипухлинну дію. У нашому дослідженні рівень експресії CD68 у групі I та групі II склав 52.44 ± 3.37 та 60.87 ± 3.14 клітин у полі зору діаметром 1 мм без достовірної різниці за критерієм Стьюдента.

Таким чином, у результаті порівняння результатів імуногістохімічного дослідження маркерів остеобластичного фенотипу встановлено достовірно вищу експресію OPN ($p < 0.001$) у тканині раку яєчників з патологічною біомінералізацією та нижчу SPARC ($p < 0.01$) у тій же групі. Не отримано достовірної різниці при аналізі отриманих результатів експресії OPG та RANKL між групою I та II. Рівень CD68 достовірно не відрізнявся в обох групах, що показує відсутність впливу кальцифікації на цей показник.

Варто зазначити, що експресія Casp3 у групі раку яєчників з патологічною біомінералізацією була вищою

($p < 0.05$). Цей факт може свідчити про стимулювальний вплив біомінеральних депозитів на інтенсивність апоптозу у пухлинній тканині. Подібний вплив патологічної біомінералізації на процеси клітинної смерті в біомінералізованих тканинах був відмічений також в інших дослідженнях [20]. Цей феномен заслуговує на подальше більш детальне вивчення.

Висновки. Отже, на основі проведеного дослідження встановлено, що наявність патологічної біомінералізації при раку яєчників стимулює експресію OPN та зниження рівня експресії SPARC, не маючи при цьому будь-якого впливу на рівень експресії OPG та RANKL. Також патологічна біомінералізація не має безпосереднього впливу на рівень CD68.

Встановлено, що процес патологічної біомінералізації може мати стимулювальний вплив на інтенсивність апоптозу пухлинної тканини. Однак для отримання більш чітких висновків необхідні подальші дослідження.

Проведене дослідження є частиною науково-дослідної теми «Стан мінералізованих тканин при застосуванні нових композитів з наночастинками Ag^+ та Cu^+ » (№ держреєстрації 0121U100471, термін виконання 2021–2023 роки).

ЛІТЕРАТУРА

- Arora T, Mullangi S, Lekkala MR. Ovarian Cancer. *StatPearls [Internet]*. 2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK567760/>
- Fedorenko ZP, Hulak LO, Mykhailovych YuI. Cancer in Ukraine, 2021-2022. Morbidity, mortality, performance indicators of the oncology service. *Biuletyn Natsionalnoho kantser-reiestru Ukrainy*. 2022; 22. (In Ukrainian).
- Momenimovahed Z, Tiznobaik A, Taheri S, Salehiniya H. Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors. *Int J Womens Health*. 2019 Apr 30;11:287-299. doi: 10.2147/IJWH.S197604.
- Mitra AK. Ovarian Cancer Metastasis: A Unique Mechanism of Dissemination [Internet]. *Tumor Metastasis*. 2016. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/64700>
- Tjhay F, Motohara T, Tayama S, Narantuya D, Fujimoto K, Guo J, Sakaguchi I, Honda R, Tashiro H, Katabuchi H. CD44 variant 6 is correlated with peritoneal dissemination and poor prognosis in patients with advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Sci*. 2015 Oct;106(10):1421-8. doi: 10.1111/cas.12765.
- Wen J, Zhao Z, Huang L, Li L, Li J, Zeng Y, Wu J, Miao Y. Switch of the ovarian cancer cell to a calcifying phenotype in the calcification of ovarian cancer. *J Cancer*. 2018 Feb 28;9(6):1006-1016. doi: 10.7150/jca.22932.

7. Arneth B. Tumor Microenvironment. *Medicina (Kaunas)*. 2019 Dec 30;56(1):15. doi: 10.3390/medicina56010015.
8. Anderson NM, Simon MC. The tumor microenvironment. *Curr Biol*. 2020 Aug 17;30(16):R921-R925. doi: 10.1016/j.cub.2020.06.081.
9. Neophytou CM, Panagi M, Stylianopoulos T, Papageorgis P. The Role of Tumor Microenvironment in Cancer Metastasis: Molecular Mechanisms and Therapeutic Opportunities. *Cancers (Basel)*. 2021 Apr 23;13(9):2053. doi: 10.3390/cancers13092053.
10. Fang D, Chen H, Zhu JY, Wang W, Teng Y, Ding HF, Jing Q, Su SB, Huang S. Epithelial-mesenchymal transition of ovarian cancer cells is sustained by Rac1 through simultaneous activation of MEK1/2 and Src signaling pathways. *Oncogene*. 2017 Mar;36(11):1546-1558. doi: 10.1038/onc.2016.323.
11. Loret N, Denys H, Tummers P, Berx G. The Role of Epithelial-to-Mesenchymal Plasticity in Ovarian Cancer Progression and Therapy Resistance. *Cancers (Basel)*. 2019 Jun 17;11(6):838. doi: 10.3390/cancers11060838.
12. Lampropoulou DI, Papadimitriou M, Papadimitriou C, Filippou D, Kourlaba G, Aravantinos G, Gazouli M. The Role of EMT-Related lncRNAs in Ovarian Cancer. *Int J Mol Sci*. 2023 Jun 13;24(12):10079. doi: 10.3390/ijms241210079.
13. Piddubnyi AM, Danylchenko SM, Romaniuk AM, Moskalenko RA. Prostatic calculi cause osteoblastic immunophenotype of prostate cancer. *Pathology*. 2019; 16 (46):170-176.
14. Rani S, Sehgal A, Kaur J, Pandher DK, Punia RS. Osteopontin as a Tumor Marker in Ovarian Cancer. *J Midlife Health*. 2022 Jul-Sep;13(3):200-205. doi: 10.4103/jmh.jmh_52_22.
15. Okamoto K. Role of RANKL in cancer development and metastasis. *J Bone Miner Metab*. 2021 Jan;39(1):71-81. doi: 10.1007/s00774-020-01182-2.
16. Renema N, Navet B, Heymann MF, Lezot F, Heymann D. RANK-RANKL signalling in cancer. *Biosci Rep*. 2016 Aug 5;36(4):e00366. doi: 10.1042/BSR20160150.
17. Feng J, Tang L. SPARC in Tumor Pathophysiology and as a Potential Therapeutic Target. *Curr Pharm Des*. 2014;20(39):6182-90. doi: 10.2174/1381612820666140619123255.
18. Feng X, Yu Y, He S, Cheng J, Gong Y, Zhang Z, Yang X, Xu B, Liu X, Li CY, Tian L, Huang Q. Dying glioma cells establish a proangiogenic microenvironment through a caspase 3 dependent mechanism. *Cancer Lett*. 2017 Jan 28;385:12-20. doi: 10.1016/j.canlet.2016.10.042.
19. Zhang J, Li S, Liu F, Yang K. Role of CD68 in tumor immunity and prognosis prediction in pan-cancer. *Sci Rep*. 2022 May 12;12(1):7844. doi: 10.1038/s41598-022-11503-2.
20. Moskalenko R, Romaniuk A, Iashchichyn I, Zakorko IS, Piddubnyi AM, Chernov YeO, Morozova-Roche LA. Involvement of proinflammatory S100A8/S100A9 in the atherocalcinosis of aortic valve. *Patologia*. 2017; 14 (1): 49-56.

Надійшла до редакції 20.10.2023 р.

Прийнята до друку 12.12.2023 р.

Електронна адреса для листування r.chuzhna@med.sumdu.edu.ua