

ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНЕ ПРОФІЛЮВАННЯ У ВИЗНАЧЕННІ ПАТОГЕНЕТИЧНИХ ВАРІАНТІВ ЗЛОЯКІСНИХ ЕПІТЕЛІАЛЬНИХ ПУХЛИН ЯЄЧНИКІВ

І.Р. ГРИЦАЙ

лікарка-онколог
хіміотерапевтичного відділення
КНП ЛОР «Львівський
онкологічний регіональний
лікувально-діагностичний
центр», аспірантка кафедри
онкології та медичної радіології
Львівського національного
медичного університету ім. Данила
Галицького, м. Львів
ORCID: 0009-0007-0751-6981

О.А. ПЕТРОНЧАК

лікар-патологоанатом ТОВ
«Західноукраїнська гістологічна
лабораторія», м. Львів
ORCID: 0000-0001-7703-3036

Н.А. ВОЛОДЬКО

д. мед. н, професорка,
завідувачка кафедри онкології
та медичної радіології
Львівського національного
медичного університету ім. Данила
Галицького; лікарка-онкогінеколог
гінекологічного відділення №1
КНП ЛОР «Львівський онкологічний
регіональний лікувально-
діагностичний центр», м. Львів
ORCID: 0000-0002-4478-5554

Контакти:

Грицай Ірина Романівна
КНП ЛОР «Львівський онкологічний
регіональний лікувально-
діагностичний центр»
м. Львів, вул. Ярослава Гашека, 2а
Тел.: +38(096)228-42-77
Email: hrytsay0204@gmail.com

ВСТУП

Рак яєчників (РЯ) є одним із найбільш агресивних та смертельних злоякісних новоутворень жіночої репродуктивної системи, що характеризується безсимптомним перебігом на ранніх стадіях та високою частотою діагностування на поширених стадіях захворювання. Так, п'ятирічна виживаність пацієнток з уперше встановленою поширеною стадією захворювання становить лише близько 29,2% [1]. Окрім того, у 70–90% пацієнток із РЯ на поширених стадіях діагностують рецидив захворювання протягом 18 місяців після встановлення діагнозу [2]. Незважаючи на значний прогрес у лікуванні РЯ, зокрема впровадження сучасних хірургічних та системних терапевтичних підходів, рівень п'ятирічної виживаності пацієнток із РЯ залишається низьким, що зумовлює необхідність вдосконалення методів персоналізованого лікування цього злоякісного новоутворення.

Гістологічна класифікація РЯ охоплює декілька морфологічно та біологічно відмінних підтипів, серед яких найпоширенішими є серозна карцинома високого ступеня злоякісності (high-grade serous carcinoma, HGSC), ендометріоїдна карцинома (endometrioid carcinoma, ENOC), світлоклітинна карцинома (clear cell carcinoma, CCC) та серозна карцинома низького ступеня злоякісності (low-grade serous carcinoma, LGSC). Кожен із цих підтипів має унікальні молекулярно-генетичні характеристики, що зумовлює їхню біологічну поведінку, чутливість до терапії та прогноз перебігу захворювання [3–6].

Імуногістохімічні маркери, як-от WT-1 (Wilms Tumor Protein), p53, Napsin A, рецептори прогестерону (progesterone receptors, PR) [7–9], поряд із молекулярно-генетичними тестами, зокрема аналізом мутацій у генах TP53, BRCA1/2, RAD51C, KRAS, CDK12, PIK3CA, набувають дедалі більшого значення в прецизійній діагностиці, стратифікації ризику та виборі оптимальної терапевтичної тактики. Зокрема, визначення статусу BRCA1/2 та інших порушень генів системи гомологічної рекомбінації (homologous recombination repair, HRR) є важливим критерієм для призначення

інгібіторів PARP (poly (ADP-ribose) polymerase) та інших таргетних препаратів, що значно покращують ефективність лікування у відповідних підгрупах пацієнток [10, 11].

Використання глибокого молекулярного профілювання в рутинній клінічній практиці дає змогу перейти до персоналізованої медицини, де план лікування формується індивідуально відповідно до біологічних особливостей пухлини. Отже, інтеграція імуногістохімічних та молекулярно-генетичних досліджень у стандартні клінічні алгоритми є ключовим напрямом вдосконалення діагностики та лікування злоякісних пухлин яєчників.

Мета дослідження: проаналізувати імуногістохімічні та молекулярні маркери на зразках пухлин різних патоморфологічних типів РЯ та оцінити їхню діагностичну цінність і роль у визначенні оптимальної персоналізованої тактики лікування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Ми провели ретроспективне дослідження пухлинних зразків від 37 пацієнток із РЯ, які проходили стаціонарне та амбулаторне лікування у Львівському онкологічному регіональному лікувально-діагностичному центрі з 2020 по 2024 роки.

Критерії включення: вік ≥ 18 років, патогістологічно підтверджений діагноз РЯ, наявність якісного біопсійного матеріалу, а також загальний функціональний стан пацієнтки, оцінений за шкалою Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) на рівні 0 або 1. Пацієнтки з ECOG 0 мали нормальний функціональний стан і були повністю здатними виконувати повсякденні дії без обмежень. Пацієнтки з ECOG 1 мали помірні симптоми захворювання, але зберігали можливість ходити та виконувати легку роботу. У досліджуваній групі 37,8% (n = 14) пацієнток мали ECOG 0, тоді як 62,2% (n = 23) – ECOG 1.

Середній вік жінок становив $60,7 \pm 0,9$ року (від 45 до 77). Пацієнткам було виконано діагностичні обстеження та призначено лікування згідно з локальними протоколами. Усім пацієнткам було проведено діагностичне лапароскопічне рестадіювання та визначення

індексу перитонеального канцероматозу (Index of Peritoneal Carcinomatosis, PCI).

Розподіл пухлинних зразків залежно від способу отримання був таким (табл. 1):

- 18 зразків (48,6%) отримано під час первинної циторедукції;
- 15 зразків (40,5%) – з інтраперитонеальних метастатичних вогнищ;
- 4 зразки (10,9%) – під час трепан-біопсії лімфогенних метастазів у надключичних лімфатичних вузлах.

Первинне гістологічне дослідження пухлинних зразків було проведено за стандартною методикою в гістологічній лабораторії КНП Львівського онкологічного регіонального лікувально-діагностичного центру, що передбачала мікроскопію з фарбуванням гематоксилін-еозином.

З метою імуногістохімічного дослідження пухлинні зразки, отримані під час хірургічного втручання (первинна циторедукція або лапароскопічне оперативне втручання) чи трепан-біопсії віддаленого метастатичного вогнища, були передані до Західноукраїнської гістологічної лабораторії (м. Львів, Україна). Там патоморфолог провів оцінку якості зразків, після чого було виконано додаткові зрізи парафінових блоків для мікроскопічного перегляду та підтвердження морфологічного типу РЯ. Імуногістохімічне дослідження проводилось на системі Vitro Master Diagnostica. Для даного дослідження було використано первинну панель моноклональних антитіл, адаптовану до гістологічних підтипів РЯ [12–14].

Вибір антитіл базувався на необхідності визначення специфічних біомаркерів, що мають значення для діагностики, прогнозування та вибору терапевтичної стратегії:

- WT-1 (6F-H2, Master Diagnostica) – мишачі моноклональні первинні антитіла, призначені для виявлення білка WT1 у досліджуваних зразках пухлинної тканини, що є характерним маркером серозного підтипу РЯ;

- p53 (Clone SP5, Master Diagnostica) – очищені кролячі моноклональні первинні антитіла, використовувані для визначення експресії білка p53 у тканинах пухлини. Аномальна експресія p53 може свідчити про мутаційні зміни в гені TP53, які часто зустрічаються у високоепітеліальних серозних карциномах (HGSC);

- Progesterone Receptor (16, Leica Biosystems) – первинне моноклональне некон'юговане антитіло BOND™, призначене для виявлення PR у клітинах пухлинної тканини. Визначення експресії PR має прогностичне значення та може впливати на вибір терапевтичного підходу;

- Napsin A (IP64, Leica Biosystems) – мишачі первинні моноклональні антитіла, що використовуються для визначення експресії Napsin A у пухлинних тканинах. Цей маркер є важливим для диференціації CCC від інших підтипів епітеліального РЯ. Оцінку імуногістохімічних реакцій проводили напівкількісним методом у понад 10 полях зору мікроскопа, зокрема за збільшення $\times 400$. Позитивною реакцією вважалася наявність коричневого забарвлення пухлинних клітин із вираженою або помірно вираженою специфічною реакцією для кожного маркера.

Діагноз встановлювали два незалежні досвідчені морфологи, які проводили аналіз відповідно до сучасних класифікацій BOOЗ [15–17].

Молекулярно-генетичне профілювання проводилось після імуногістохімічного визначення патогістологічного типу РЯ. Дослідження виконували на платформі Illumina (США) із використанням секвенування нового покоління (next generation sequencing, NGS). Було виконано аналіз розширеної панелі, що охоплювала виявлення соматичних та гермінальних мутацій у генах: системи гомологічної рекомбінації (HRR), TP53 (у кодуючих екзонах та в межах «екзон-інтрон»), «гарячі точки» генів BRAF, ERBB2, KRAS, NRAS, PIK3CA [18].

Таблиця 1. Клінічні характеристики пацієнток

Характеристика	Підмножина	Пацієнтки, n (%)
ECOG	0	14 (37,8%)
	1	23 (62,2%)
Досліджуваний матеріал	Первинна пухлина	18 (48,6%)
	Метастаз	15 (40,5%)
	Віддалений метастаз	4 (10,9%)
Гістологічний підтип	HGSC	19 (51,4%)
	ENOC	7 (18,9%)
	CCC	7 (18,9%)
	Некласифіковані пухлини	4 (10,8%)
Стадія захворювання	IIIc	7 (18,9%)
	IV	16 (43,2%)
Отримане лікування	НАХТ + операція + АХТ	30 (81,1%)
	Операція + АХТ	20 (54,1,5%)
	ПХТ	1 (2,7%)

Примітки: АХТ – ад'ювантна хіміотерапія; НАХТ – неoad'ювантна хіміотерапія; ПХТ – поліхіміотерапія.

ПУХЛИНИ ТА ПЕРЕДПУХЛИННА ПАТОЛОГІЯ

Інтерпретація виявлених генетичних змін проводилася відповідно до рекомендацій ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics), ENIGMA Consortium та ACGS (Association for Clinical Genomic Science) [19].

Статистичний аналіз даних здійснювали за допомогою програм Microsoft Excel та Statistica 12 (StatSoft, США) із застосуванням варіаційних методів та непараметричного критерію χ^2 Пірсона для оцінки вірогідності відмінностей між групами. Під час обробки отриманих результатів оцінювали відносні та середні величини. Результати дослідження подані як середнє арифметичне значення (M) та стандартна похибка середнього арифметичного ($M \pm m$).

Дизайн дослідження розглянутий та схвалений комісією з біоетики Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (протокол №8 від 12.10.2022). Усі пацієнтки надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні.

РЕЗУЛЬТАТИ

Результати експресії відповідних маркерів із використанням імуногістохімічної панелі для зразків епітеліальних пухлин яєчників, попередньо досліджених гістологічно, представлені в табл. 2.

У серозних карциномах ($n = 24$) виявлено високий рівень експресії маркерів WT-1 (83,3%) та аномальну експресію білка p53 (54,2%), що свідчить про порушення контролю клітинного циклу та репарації пошкодженої ДНК і може бути асоційовано з агресивним перебігом раку яєчників та несприятливим прогнозом [20].

Аналіз експресії PR показав, що більше ніж половина серозних карцином (54,2%) демонструє позитивну реакцію, що може вказувати на потенційну чутливість до гормонотерапії.

Для ендометріюїдних карцином ($n = 7$) характерний інший профіль маркерів: лише 14,3% зразків експресували WT-1 та мали аномальну експресію p53, тоді як у 85,7% зразків спостерігалась нормальна експресія p53 і позитивний статус прогестеронових рецепторів, що може мати клінічне значення щодо терапевтичних підходів.

Оцінка імуногістохімічного профілю світлоклітинних карцином підтвердила класичний фенотип: у всіх випадках виявлено позитивну експресію Napsin A, WT1-1, PR та p53 дикого типу.

На серії мікроскопічних зображень імуногістохімічних реакцій на зразках пухлин із використанням досліджуваної панелі маркерів можна оцінити інтенсивність фарбування або його відсутність (рис. 1–4).

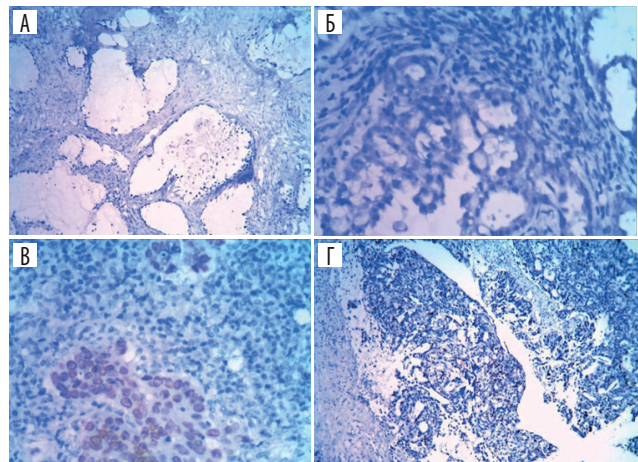


Рисунок 1. Імуногістохімічні варіанти експресії білка p53 у різних морфопатогенетичних підтипах РЯ

A – HGSC: повна відсутність експресії p53 (нульовий / «зеро» варіант) (збільшення $\times 10$);
Б – CCC: варіант експресії p53 дикого типу (збільшення $\times 10$ та $\times 40$);
В – HGSC: гіперекспресія p53 з інтенсивним ядерним забарвленням у $> 80\%$ пухлинних клітин (збільшення $\times 40$);
Г – ENOC: варіант експресії p53 дикого типу (збільшення $\times 10$ та $\times 40$).

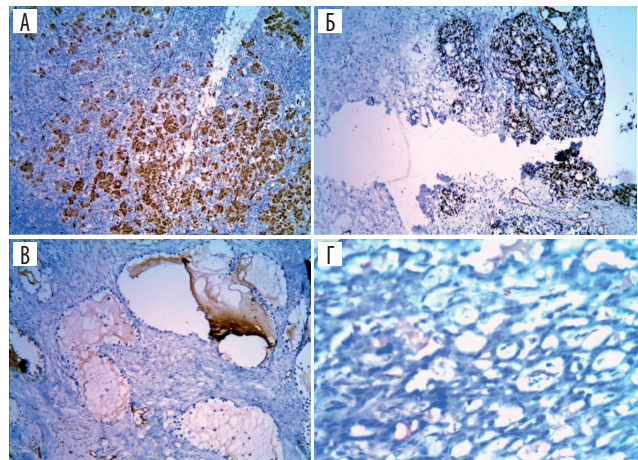


Рисунок 2. Імуногістохімічні варіанти експресії WT-1 у різних морфопатогенетичних підтипах РЯ

A – LGSC: позитивна ядерна експресія WT-1 (збільшення $\times 10$);
Б – HGSC: позитивна ядерна експресія WT-1 (збільшення $\times 10$);
В, Г – CCC: негативна експресія WT-1 у пухлинних клітинах (збільшення $\times 10$ та $\times 40$).

Особливо високою є діагностична цінність імуногістохімічного дослідження у випадках некласифікованих пухлин без встановленого первинного вогнища: попередньо діагноз у цій підгрупі було встановлено лише на підставі гістологічного дослідження. Первинно гістогенез цих

Таблиця 2. Імуногістохімічна панель для визначення морфопатогенетичних типів злоякісних епітеліальних пухлин

Карциноми	WT-1	p53abnormal	p53normal	PR	Napsin A
Серозні карциноми ($n = 24$)	83,3% ($n = 20$)	54,2% ($n = 13$)	45,8% ($n = 11$)	54,2% ($n = 13$)	-
Ендометріюїдні карциноми ($n = 7$)	14,3% ($n = 13$)	14,3% ($n = 1$)	85,7% ($n = 6$)	85,7% ($n = 6$)	-
Світлоклітинні карциноми ($n = 6$)	-	-	-	-	100% ($n = 6$)

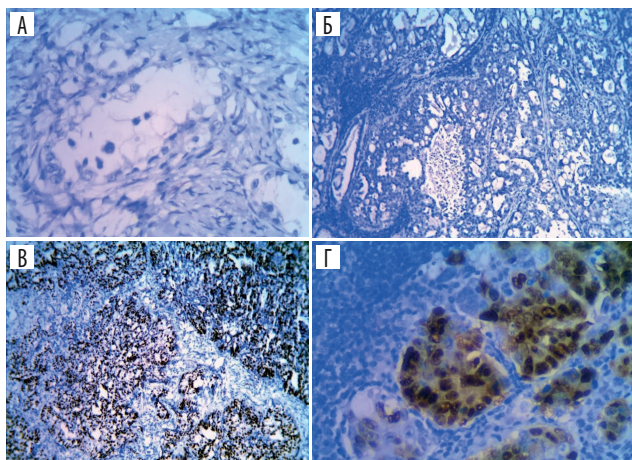


Рисунок 3. Імуногістохімічна експресія прогестеронових PR у різних морфопатогенетичних підтипах РЯ
А – CCC: негативна експресія PR (збільшення $\times 40$);
Б – HGSC: негативна експресія PR (збільшення $\times 10$);
В – ENOC: виражена або помірна ядерна експресія PR приблизно у 85% пухлинних клітин (збільшення $\times 10$);
Г – LGSC: виражена або помірна ядерна експресія PR приблизно у 80% пухлинних клітин (збільшення $\times 40$).

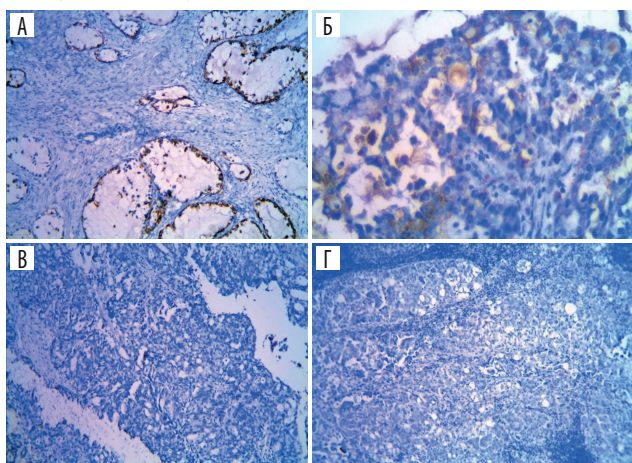


Рисунок 4. Імуногістохімічна експресія Napsin A у різних морфопатогенетичних підтипах РЯ
А, Б – CCC: позитивне цитоплазматичне фарбування на Napsin A у пухлинних клітинах (збільшення $\times 10$ та $\times 40$);
В – ENOC: негативна експресія Napsin A у пухлинних клітинах (збільшення $\times 10$);
Г – HGSC: негативна експресія Napsin A у пухлинних клітинах (збільшення $\times 10$).

дисемінованих пухлин не було встановлено, проте за допомогою імуногістохімічної панелі у 100% випадків вдалося чітко визначити клінічний та патоморфологічний тип РЯ (табл. 3).

У двох пацієнток гістологічно діагностовано HGSC, проте на підставі даних імуногістохімічного профілювання (WT-1(+), PR 90%, p53 – нормальна експресія, Napsin A) діагноз було скориговано на LGSC [21]. Цей морфотип додатково підтверджений молекулярно-генетичним дослідженням, яке виявило мутацію гена KRAS [22]. В однієї пацієнтки гістологічне дослідження встановило діагноз HGSC, однак після проведення імуногістохімічного аналізу діагноз був переглянутий та змінений на ENOC, оскільки пухлина була WT-1(–) та PR(+++).

Молекулярно-генетичне профілювання зразків пухлин різних типів РЯ виявило наявність мутацій різноманітних генів

Таблиця 3. Порівняльна характеристика морфологічних та імуногістохімічних особливостей пухлин, n (%)

Метод діагностики / морфотип РЯ	Гістологічне дослідження	Імуногістохімічне дослідження
HGSC	19 (51,4%)	21 (56,8%)
ENOC	7 (18,9%)	7 (18,9%)
CCC	7 (18,9%)	6 (16,2%)
LGSC	0	3 (8,1%)
MC	0	0
Некласифіковані пухлини	4 (10,8%)	0

та генів, що належать до системи HRR. На рис. 5–7 зображено розподіл виявлених мутацій генів за HGSC, ENOC та CCC.

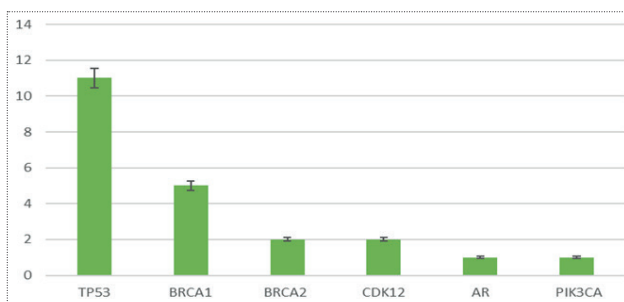


Рисунок 5. Розподіл виявлених генетичних мутацій у випадках HGSC (n = 21)

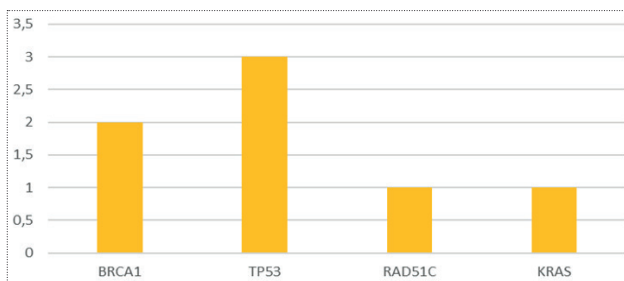


Рисунок 6. Розподіл виявлених генетичних мутацій у випадках ENOC (n = 7)

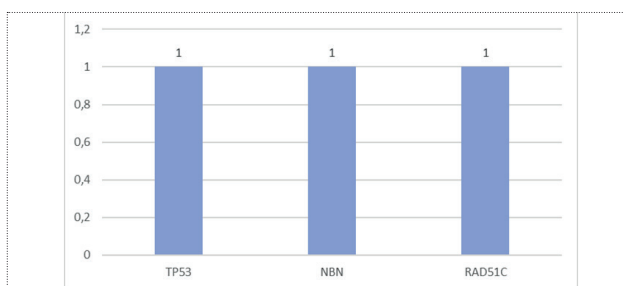


Рисунок 7. Розподіл виявлених генетичних мутацій у випадках CCC (n = 6).

Також ми провели додатковий аналіз результатів імуногістохімічного дослідження на білок p53 та молекулярного дослідження змін гена TP53 у групі пацієнток із серозним високозлоякісним РЯ (табл. 4). Аберантна експресія білка p53 мала б відповідати наявності мутації гена TP53.

Мутацію гена TP53 було виявлено в 11 випадках (52,4%) методом NGS, тоді як аномальну експресію білка p53 за даними імуногістохімічного дослідження зафіксовано в 14 випадках (66,7%).

Серед 11 випадків мутації TP53 аномальна експресія білка p53 була визначена в 9 зразках (81,8%), що свідчить про неповну кореляцію між мутаційним статусом TP53 та іму-

Таблиця 4. Характеристика змін гена TP53 та білка p53 в підтипі HGSC, n (%)

Молекулярне профілювання, ген TP53	Імуногістохімія, p-53 нормальний дикий тип	Імуногістохімія, p53 аномальний / аберантний / мутований тип (відсутня експресія)	Імуногістохімія, p53 аномальний / аберантний / мутований тип (гіперекспресія)
Мутація, n = 11	2 (18,2%)	7 (63,6%)	2 (18,2%)
Без мутації, n = 10	5 (50%)	3 (30%)	2 (20%)
Усього	7	10	4

ногістохімічними змінами білка p53. Це підтверджує, що не всі мутації TP53 призводять до помітних змін експресії p53. Серед пацієнток без виявленої мутації TP53 аномальна експресія p53 була визначена в 5 випадках (50%) методом імуногістохімії. Це може свідчити про альтернативні механізми регуляції p53, які не пов'язані з прямими мутаціями в гені TP53, або про обмеження молекулярного тестування в декількох деяких видів генетичних змін.

ОБГОВОРЕННЯ

На сьогодні загальноприйнятим вважається той факт, що термін «рак яєчників» охоплює п'ять різних за гістогенезом злоякісних новоутворень: серозну карциному високого ступеня злоякісності, серозну карциному низького ступеня злоякісності, ендометрію карциному, муцинозну карциному та світлоклітинну карциному. Ці п'ять патоморфологічних підтипів суттєво відрізняються за клітинним походженням, молекулярною біологією, клінічним перебігом і терапевтичними підходами, проте традиційно розглядаються як єдине захворювання.

На етапі первинної діагностики обов'язковим стандартом у всьому світі є гістологічна верифікація злоякісного новоутворення. Однак часто в клінічній практиці ізольоване гістологічне дослідження виявляється недостатнім. З огляду на гетерогенність РЯ та його специфічний мутаційний профіль, для точного встановлення діагнозу та вибору оптимальної терапевтичної тактики необхідний комплексний підхід.

У цьому дослідженні ми застосували багатоетапну стратегію діагностики, що дало змогу максимально точно класифікувати пухлини та індивідуалізувати лікування:

1. Гістологічна підкласифікація на підставі морфологічних характеристик.
2. Верифікація гістологічного підтипу із застосуванням розширеної імуногістохімічної панелі маркерів: WT-1, p53, Napsin A та PR.
3. Молекулярне профілювання пухлин, що охоплювало визначення статусу дефіциту гомологічної рекомбінації (homologous recombination deficiency, HRD) та аналіз мутацій у гені TP53 [23].

Результати імуногістохімічного дослідження підтвердили суттєві відмінності експресії маркерів серед різних підтипів РЯ, зокрема серозних (high grade та low grade), ендометрію карцином та світлоклітинних карцином. Це підкреслює високу діагностичну цінність імуногістохімічного аналізу для уточнення морфологічного підтипу та ідентифікації первинного вогнища у випадках некласифікованих пухлин.

У групі пацієнток із HGSC мутації TP53 виявлено у більшості випадків (52,4%), що відповідає світовим даним, згідно з якими до 90% HGSC притаманна наявність мутацій TP53. Оптимізоване використання імуногістохімічного аналізу експресії p53 як молекулярного сурогату для мутації TP53 було досліджено Köbel et al. (2016) [24].

У процесі застосування бінарної системи оцінки імуногістохімічного фарбування p53 було виявлено високу кореляцію між аномальною експресією p53 (p53abn) та наявністю мутації TP53. Зокрема, аномальна експресія p53 (p53abn) характеризується:

- інтенсивним ядерним фарбуванням у > 80% пухлинних клітин (патерн надекспресії);
- повною відсутністю експресії (нульовий патерн);
- цитоплазматичною експресією без ядерного фарбування.

Натомість гетерогенна експресія p53 (p53wt) корелювала з TP53 дикого типу. Такі результати представлені в дослідженні M.H. Chui et al. (2021) [16]. У цьому дослідженні виявлення аберантної експресії білка p53 у поєднанні з мутаціями в гені TP53 може мати декілька пояснень:

1. Посттрансляційні модифікації (фосфорилювання, ацетилювання тощо) можуть впливати на активність, стабільність та локалізацію p53 у клітині.
2. Патологічні білкові взаємодії можуть змінювати функцію p53 навіть за відсутності прямих мутацій у TP53.
3. Активація альтернативних сигнальних шляхів може призводити до аномальної експресії або активності p53.
4. Інші гени-регулятори клітинного циклу (наприклад, MDM2, CDKN2A) можуть бути мутовані та опосередковано впливати на p53.
5. Виявлення аномальної експресії p53 у поєднанні з мутаціями TP53 підтверджує ключову роль цього білка в канцерогенезі HGSC. Це підкреслює необхідність ретельного моніторингу гістологічних, імуногістохімічних і молекулярних характеристик кожного підтипу РЯ для визначення найефективнішої стратегії лікування.

Слід зазначити, що частота високої експресії рецепторів до прогестерону за HGSC у нашому дослідженні була вищою (54%), ніж у дослідженнях Li Hongyi et al. (2021) [25].

Додаткове молекулярне профілювання може забезпечити глибше розуміння генетичних особливостей кожного типу РЯ, що сприяє вибору персоналізованої терапії, зокрема таргетних препаратів.

ВИСНОВКИ

1. Комплексний діагностичний підхід покращує точність класифікації підтипів РЯ. Поєднання гістологічного дослі-

дження, імуногістохімічного профілювання та молекулярно-генетичного тестування дає змогу з високою точністю визначати морфотип пухлини. Це особливо важливо для розмежування високозлоякісної серозної карциноми (HGSC) та низькозлоякісної серозної карциноми (LGSC), а також для ідентифікації ендометріоїдного та світлоклітинного підтипів, що має безпосередній вплив на вибір терапевтичної тактики.

2. Імуногістохімічний аналіз білка p53 є високочутливим методом оцінки статусу TP53. Використання бінарної системи оцінки експресії p53 дає змогу з високою специфічністю передбачати мутаційний статус гена TP53, що є ключовим молекулярним маркером для HGSC. Проте виявлена неповна кореляція між мутаціями TP53 та рівнем експресії p53 підкреслює необхідність врахування альтернативних механізмів посттрансляційної модифікації білка p53 та взаємодії з іншими сигнальними шляхами.

3. Молекулярне профілювання пухлин розширює можливість персоналізованої терапії. Виявлення мутацій у TP53,

BRCA1/2, RAD51C, KRAS, CDK12 та інших ключових генах дає змогу стратифікувати пацієнток за потенційною чутливістю до таргетних препаратів, зокрема інгібіторів PARP у разі виявлення дефіциту гомологічної рекомбінації (HRD). Такий підхід може значно покращити лікувальні результати та прогноз для пацієнток із різними підтипами РЯ.

4. Отже, інтеграція гістологічних, імуногістохімічних та молекулярних досліджень не лише покращує діагностику та класифікацію пухлин яєчників, але й відкриває нові можливості для персоналізованого лікування, підвищуючи його ефективність та знижуючи ризик рецидивів. Подальші дослідження в цій сфері сприятимуть розширенню можливостей таргетної терапії та розробці інноваційних біомаркерів, що дасть змогу оптимізувати стратегії лікування для кожної пацієнтки.

Конфлікт інтересів

Конфлікт інтересів відсутній.

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

1. The Global Cancer Observatory. Source: Globocan 2018 [Internet]. World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2019. Available from: <https://gco.iarc.fr/en>
2. Bowtell DD, Böhm S, Ahmed AA, et al. Rethinking ovarian cancer II: reducing mortality from high-grade serous ovarian cancer. *Nat Rev Cancer*. 2015;15:668–79. DOI: 10.1038/nrc4019
3. Jayson GC, Kohn EC, Kitchener HC, Ledermann JA. Ovarian cancer. *Lancet*. 2014;384(9951):1376–88. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)62146-7
4. Kossai M, Leary A, Scoazec J-Y, Genestie C. Ovarian Cancer: A Heterogeneous Disease. *Pathobiology*. 2018;85(1-2):41–49. DOI: 10.1159/000479006
5. Reid BM, Permuth JB, Sellers TA. Epidemiology of ovarian cancer: a review. *Cancer Biol Med* 2017 Feb;14(1):9–32. DOI: 10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0084
6. Köbel M, Kang EY. The Evolution of Ovarian Carcinoma Subclassification. *Cancers (Basel)*. 2022 Jan 14;14(2):416. DOI: 10.3390/cancers14020416
7. WHO. Classification of Tumours Editorial Board [Internet]. Female Genital Tumours, 5th ed.; International Agency for Research on Cancer: Lyon, France, 2020. Available from: <https://publications.iarc.who.int/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/Female-Genital-Tumours-2020>
8. Santandrea G, Piana S, Valli R, et al. Immunohistochemical Biomarkers as a Surrogate of Molecular Analysis in Ovarian Carcinomas: A Review of the Literature. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Jan 29;11(2):199. DOI: 10.3390/diagnostics11020199
9. Prat J, D'Angelo E, Espinosa I. Ovarian carcinomas: At least five different diseases with distinct histological features and molecular genetics. *Hum. Pathol*. 2018, 80, 11–27. DOI: 10.1016/j.humpath.2018.06.018
10. Gilks CB, Davidson B, Köbel M, et al. Ovary, Fallopian Tube and Primary Peritoneal Carcinoma Histopathology Reporting Guide; International Collaboration on Cancer Reporting [Internet]. Sydney, Australia, 2021. Available from: https://discovery.ucl.ac.uk/id/eprint/10162283/8/Ledermann_ICCR%20Ovarian%202nd%20edn%20-%20manuscript%202022-03-31%20no%20tracking.pdf
11. Weren RDA, Mensenkamp AR, Simons M, et al. Novel BRCA1 and BRCA2 Tumor Test as Basis for Treatment Decisions and Referral for Genetic Counselling of Patients with Ovarian Carcinomas. *Hum. Mutat*. 2017, 38, 226–35. DOI: 10.1002/humu.23137
12. Cruz SM, Miller RE. Targeted therapies in gynaecological cancers. *Histopathology*. 2020 Jan;76(1):157–70. DOI: 10.1111/his.14009
13. Köbel M, Piskorz AM, Lee S, et al. Optimized p53 immunohistochemistry is an accurate predictor of TP53 mutation in ovarian carcinoma. *J. Pathol. Clin. Res*. 2016. Jul 13;2(4):247–258. DOI: 10.1002/cjp.2.53
14. Wong RWC, Palicelli A, Hoang L, Singh N. Interpretation of p16, p53 and mismatch repair protein immunohistochemistry in gynaecological neoplasia. *Diagn. Histopathol*. 2020, 26, 257–77.
15. Colombo N, Sessa C, du Bois A, 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*. 2019 May 1;30(5):672–705. DOI: 10.1093/annonc/mdz062
16. Chui MH, Momeni Boroujeni A, Mandelker D, et al. Characterization of TP53–wildtype tubo-ovarian high-grade serous carcinomas: Rare exceptions to the binary classification of ovarian serous carcinoma. *Mod. Pathol*. 2021 Feb;34(2):490–501. DOI: 10.1038/s41379-020-00648-y
17. Santandrea G, Piana S, Valli R, et al. Immunohistochemical biomarkers as a surrogate of molecular analysis in ovarian carcinomas: a review of the literature. *Diagnostics (Basel)*. 2021 Jan 29;11(2):199. DOI: 10.3390/diagnostics11020199
18. Zarei S, Wang Y, Jenkins SM, et al. Clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular characteristics of ovarian serous carcinoma with mixed morphologic features of high-grade and low-grade serous carcinoma. *Am. J. Surg. Pathol*. 2020 Mar;44(3):316–28. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001419
19. Coleman RL, Hennessy BT, Coleman RL, Markman M. Ovarian Cancer Version 1.2020—March 11, 2020 [Internet]. NCCN: Plymouth Meeting, PA, USA, 2020. Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/ovarian.pdf (accessed on 29 January 2021)
20. Dochez V, Caillon H, Vaucel E, et al. Biomarkers and algorithms for diagnosis of ovarian cancer: CA125, HE4, RMI and ROMA, a review. *J. Ovarian Res*. 2019 Mar 27;12(1):28. DOI: 10.1186/s13048-019-0503-7
21. McCluggage WG, Vosmikova H, Laco J. Ovarian Combined Low-grade Serous and Mesonephric-like Adenocarcinoma. *Int. J. Gynecol. Pathol*. 2020 Jan;39(1):84–92. DOI: 10.1097/PGP.0000000000000573
22. Mirkovic J, McFarland M, Garcia E, et al. Targeted Genomic Profiling Reveals Recurrent KRAS Mutations in Mesonephric-like Adenocarcinomas of the Female Genital Tract. *Am. J. Surg. Pathol*. 2018 Feb;42(2):227–33. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000958
23. Liu Y, Su Z, Tavana O, Gu W. Understanding the complexity of p53 in a new era of tumor suppression. *Cancer Cell*. 2024;42:946–67. DOI: 10.1016/j.ccell.2024.04.009
24. Peres LC, Cushing-Haugen KL, Köbel M, et al. Invasive Epithelial Ovarian Cancer Survival by Histotype and Disease Stage. *JNCI J. Natl. Cancer Inst*. 2019 Jan 1;111(1):60–8. DOI: 10.1093/jnci/djy071
25. Li H, Yang Y, Hong W, et al. Applications of genome editing technology in the targeted therapy of human diseases: mechanisms, advances and prospects. 2020 Jan 3;5(1):1. DOI: 10.1038/s41392-019-0089-y.

IMMUNOHISTOCHEMICAL AND MOLECULAR GENETIC PROFILING IN DETERMINING PATHOGENETIC VARIANTS OF MALIGNANT EPITHELIAL OVARIAN TUMORS

I.R. Hrytsay, oncologist of chemotherapy, Municipal Non-Profit Enterprise of the Lviv Regional Council "Lviv Oncological Regional Treatment and Diagnostic Center", postgraduate student of the Department of Oncology and Radiology, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv

O.A. Petronchak, pathologist, "Western Ukrainian Histological Laboratory", Lviv

N.A. Volodko, MD, professor, head of the Department of Oncology and Radiology, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, gynecological oncologist at the Gynecological Department No. 1, Municipal Non-Profit Enterprise of the Lviv Regional Council "Lviv Oncological Regional Treatment and Diagnostic Center", Lviv

Objective of the study: to investigate immunohistochemical and molecular markers in tumor samples representing different pathomorphological types of ovarian cancer (OC) and assess their predictive value.

Materials and methods. A retrospective analysis was conducted on 37 tumor samples obtained from patients with OC through primary cytoreductive surgery, diagnostic laparoscopy with biopsy, or trephine biopsy of distant metastases. The study utilized an immunohistochemical panel assessing the expression of WT-1, p53, Napsin A, and progesterone receptors, along with a molecular genetic panel targeting mutations in HRR, TP53, and other key genes.

Results. Histological analysis identified the following tumor distribution: high-grade serous carcinoma (HGSC) – 19 cases (51.4%), endometrioid carcinoma (ENOC) – 7 (18.9%), clear cell carcinoma (CCC) – 7 (18.9%), and unclassified tumors – 4 (10.8%).

The distribution was revised following immunohistochemical analysis: HGSC – 21 cases (56.8%), ENOC – 7 (18.9%), CCC – 6 (16.2%), and low-grade serous carcinoma (LGSC) – 3 (8.1%). A discrepancy between pathomorphological and immunohistochemical diagnoses was observed in 21.6% of cases; however, immunohistochemical technique enabled a definitive subtype diagnosis in 97.3% of cases.

Among 21 HGSC cases, TP53 mutations were detected in 11 (50%) patients, BRCA1 in 5 (22.7%), BRCA2 in 2 (9.1%), CDK12 in 2 (9.1%), and one case each of AR (4.5%) and PIK3CA (4.5%).

In ENOC cases, BRCA1 mutations were found in 2 (25.6%) patients, TP53 in 3 (42.9%), and one case each – RAD51C (14.7%) and KRAS (14.7%).

In CCC, molecular profiling revealed mutations in the following genes: TP53 – 1 case (16.7%), NBN – 1 case (16.7%), RAD51C – 1 case (16.7%). Overall, TP53 mutations were identified in 11 (52.4%) cases using next-generation sequencing, while p53 protein abnormalities were observed in 14 (66.7%) cases via immunohistochemical analysis.

Conclusions. Immunohistochemistry is essential for the accurate classification of malignant epithelial ovarian tumors. Concurrently, molecular profiling provides critical insights into homologous recombination repair deficiencies and reveals key mutations not only in HGSC but also in ENOC and CCC subtypes. Together, these tests support personalized treatment selection, including tailored chemotherapy regimens and targeted therapies, potentially enhancing treatment response and patient outcomes.

Keywords: ovarian cancer, histology, carcinoma, immunohistochemistry, biomarkers, pathomorphological types, gene mutations, molecular profiling.

ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНЕ ПРОФІЛЮВАННЯ У ВИЗНАЧЕННІ ПАТОГЕНЕТИЧНИХ ВАРІАНТІВ ЗЛОЯКІСНИХ ЕПІТЕЛІАЛЬНИХ ПУХЛИН ЯЄЧНИКІВ

I.Р. Грицай, лікарка-онколог хіміотерапевтичного відділення КНП ЛОР «Львівський онкологічний регіональний лікувально-діагностичний центр»; аспірантка кафедри онкології та медичної радіології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, м. Львів

О.А. Петрончак, лікар-патологоанатом ТОВ «Західноукраїнська гістологічна лабораторія», м. Львів

Н.А. Володько, д. мед. н, професорка, завідувачка кафедри онкології та медичної радіології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького; лікарка-онкогінеколог гінекологічного відділення №1 КНП ЛОР «Львівський онкологічний регіональний лікувально-діагностичний центр», м. Львів

Мета дослідження: проаналізувати імуногістохімічні та молекулярні маркери на зразках пухлин різних патоморфологічних типів раку яєчників (РЯ) та визначити їхню предиктивну цінність.

Матеріали та методи. Ретроспективний аналіз 37 зразків пухлин, отриманих від пацієнток із РЯ під час первинної циторедукції, лапароскопічного діагностичного втручання з виконанням біопсії, або трепан-біопсії віддалених метастазів. Дослідження проведено з використанням імуногістохімічної панелі, що охоплювала визначення експресії WT-1, p53, Napsin A, рецепторів прогестерону, а також молекулярно-генетичної панелі (аналіз генів системи HRR, TP53 та інших точкових мутацій).

Результати. Визначено наступний гістологічний розподіл пухлин: серозна карцинома високого ступеня злоякісності (HGSC) – 19 випадків (51,4%), ендометріоїдна карцинома (ENOC) – 7 випадків (18,9%), світлоклітинна карцинома (CCC) – 7 випадків (18,9%), некласифіковані пухлини – 4 випадки (10,8%).

Після імуногістохімічного аналізу встановлено наступний розподіл морфотипів пухлин: HGSC – 21 випадок (56,8%), ENOC – 7 випадків (18,9%), CCC – 6 випадків (16,2%), серозна карцинома низького ступеня злоякісності (LGSC) – 3 випадки (8,1%). Оцінка результатів імуногістохімічного аналізу в досліджуваній групі пацієнток виявила невідповідність між патоморфологічним та імуногістохімічним діагнозом у 21,6% випадків. Водночас у 97,3% випадків імуногістохімічне дослідження дало змогу чітко підтвердити морфологічний підтип РЯ.

Серед 21 випадку HGSC в 11 пацієнток виявлено мутацію гена TP53 (50%), у 5 випадках – BRCA-1 (22,7%), у двох – BRCA-2 (9,1%), у двох – CDK12 (9,1%) і по одному випадку – AR (4,5%) та PIK3CA (4,5%).

Серед 7 випадків ENOC у двох випадках виявлена мутація гена BRCA-1 (25,6%), у трьох – TP53 (42,9%), по одному випадку – RAD51C (14,7%) та KRAS (14,7%).

За CCC за допомогою молекулярного профілювання виявлено мутації в таких генах: TP53 – 1 випадок (16,7%), NBN – 1 випадок (16,7%), RAD51C – 1 випадок (16,7%). Мутація гена TP53 була виявлена в 11 випадках (52,4%) методом секвенування наступного покоління, а аномальний білок p53 було ідентифіковано в 14 випадках (66,7%) за допомогою імуногістохімічного аналізу.

Висновки. Імуногістохімічне дослідження є необхідним діагностичним інструментом для встановлення певного морфопатогенетичного типу злоякісних епітеліальних пухлин яєчників. Водночас молекулярне профілювання дає змогу оцінити стан системи гомологічної рекомбінації та виявити ключові генетичні мутації, які можуть бути наявні не лише за HGSC, а й ENOC та CCC морфотипів. Проведення цих досліджень необхідне для персоналізованого вибору тактики лікування, яка охоплює оптимальні хіміотерапевтичні схеми, підтримувальну таргетну терапію, що може забезпечити прогнозовано високу відповідь на лікування.

Ключові слова: рак яєчників, гістологічне дослідження, карцинома, імуногістохімічне дослідження, маркер, патоморфологічні типи, ген, мутація.