

OPEN ACCESS

DOI: 10.25040/ntsh2024.01.13

Адреса: Львів, вул. Пекарська 69, 79010

E-mail: hrytsay0204@gmail.com

Отримано: 02.04.2024

Прийнято: 06.05.2024

Опубліковано: 28.06.2024

ORCID IDs

Ірина Грицай:

<https://orcid.org/0009-0007-0751-6981>

Юлія Мазур:

<https://orcid.org/0000-0001-9319-5182>

Северин Фернеза:

<https://orcid.org/0000-0002-3974-7975>

Оксана Сулаєва:

<https://orcid.org/0000-0002-9614-4652>

Наталія Володько:

<https://orcid.org/0000-0002-4478-5554>

Конфлікт інтересів: лабораторну частину роботи виконано за рахунок гранту лабораторії CSD.

Особистий внесок авторів:

Концепція: Наталія Володько, Ірина Грицай;

Результати дослідження: Ірина Грицай, Наталія Володько, Юлія Мазур, Северин Фернеза, Оксана Сулаєва;

Написання статті: Ірина Грицай, Наталія Володько, Юлія Мазур;

Редагування та затвердження остаточного варіанту: Ірина Грицай, Наталія Володько, Северин Фернеза.

Дозвіл комісії з біоетики щодо проведення досліджень: дослідження було схвалено локальною етичною комісією Львівського регіонального онкоцентру.

Фінансування: автори не отримали жодної фінансової підтримки свого дослідження.



© Всі автори, 2024

Імплементация молекулярного профілювання в діагностиці та плануванні лікування хворих на поширений рак яєчників

Ірина Грицай¹, Юлія Мазур¹, Северин Фернеза²,
Оксана Сулаєва³, Наталія Володько¹

¹Львівський медичний університет імені
Данила Галицького, Львів, Україна

²Комунальне некомерційне підприємство
Львівської міської ради «Західноукраїнський
спеціалізований дитячий медичний центр», Львів, Україна
³Медична лабораторія CSD (ТОВ СІ ЕС ДІ ЛАБ),
Київ, Україна

Вступ. Молекулярне профілювання на основі методу секвенування наступного покоління (NGS) дозволяє провести мультигенне дослідження раку яєчників (РЯ) та отримати цінні дані для подальшого лікування та прогнозу.

Мета дослідження. Оцінити інформативність молекулярно-генетичного тестування з використанням панелі, що виявляє пошкодження генів сигнальних шляхів і системи гомологічної рекомбінації (HRR), для остаточної діагностики та визначення плану лікування пацієток із РЯ.

Методи та матеріали. Включено 30 пацієток із РЯ III-IV стадії. Із застосуванням методу NGS, досліджено наявність гермінальних і соматичних мутацій у 32 генах, враховуючи гени системи HRR, гени сигнальних шляхів (BRAF, ERBB2, KRAS, NRAS, PIK3CA) та ген TP53.

Результати. Серед обстежених пацієток мутаційні зміни в 23 випадках було виявлено в пухлинах (76.7%) та в 2-х випадках – у периферичній крові (6.7%). Із 25 випадків дефіцит репарації ДНК шляхом гомологічної рекомбінації (HRD статус) був виявлений у 14 зразках (56%), розподіляючись за морфотипом пухлини: серозна високозлоякісна карцинома (СВЗК) – 9 зразків (64.3%), ендометріїдний рак – 3 зразки (21.4%) та світлоклітинна карцинома – 2 зразки (14.3%). Мутація TP53 виявлена в 10 випадках (40%), із них у 7 пацієток із СВЗК (70%), натомість наявність мутації KRAS встановлено у 3-х пацієток (12%) із морфологією ендометріїдним раком (2 випадки, 66.7%) та СВЗК (1 випадок, 33.3%).

HRD статус корелював із високою чутливістю до платиновмісної хіміотерапії.

Висновки. Молекулярно-генетичне профілювання допомагає уточнити морфогенетичний тип РЯ, скорегувати стратегію лікування пацієток, з огляду на що його доцільно проводити на етапах первинної діагностики поширених форм РЯ.

Ключові слова: рак яєчників, мутація, гени, молекулярне профілювання, секвенування наступного покоління.

Implementation of molecular profiling in the diagnosis and treatment planning of patients with advanced ovarian cancer

Iryna Hrytsay¹, Yulia Mazur¹, Severyn Ferneza²,
Oksana Sulaieva, Natalia Volodko¹

¹ Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

² Municipal Non-Profit Enterprise of the Lviv City Council
"Western Ukrainian Specialized Children's Medical Center",
Lviv, Ukraine

³CSD laboratory, Kyiv, Ukraine

Introduction. Early diagnosis and personalized treatment of patients with malignant ovarian tumors based on molecular changes in the tumor of a specific patient is a priority research area in gynecological oncology. However, the clinical informativeness of certain genetic signatures remains unclear. Molecular profiling based on the next-generation sequencing (NGS) method, which allows multigenomic research of ovarian tumors, is not widely used among clinicians in routine clinical practice in Ukraine.

The aim of this study was to evaluate the informativeness of molecular genetic testing using a panel that detects damage to genes of signaling pathways and the homologous recombination system (HRR) for the final diagnosis and determination of the treatment plan for patients with ovarian cancer (OC).

Methods and materials. 30 patients with OC at stages III-IV undergoing inpatient treatment at the Lviv Regional Oncology Treatment and Diagnostic Center (LROTDC) during 2019–2023 were examined. The presence of germinal and somatic mutations in 32 genes was investigated using the NGS method, including genes of the HRR system, genes of signaling pathways (BRAF, ERBB2, KRAS, NRAS, PIK3CA) and the TP53 gene.

Results. Mutational changes were identified in the tumors of 23 (76.7%) examined patients and in the peripheral blood of 2 (6.7%) patients. Out of 25 cases, DNA repair deficiency by homologous recombination (HRD status) was detected in 14 samples (56%), distributed by tumor morphotype as follows: high-grade serous carcinoma (HGSC) – 9 samples (64.3%), endometrial cancer – 3 samples (21.4%) and clear cell carcinoma – 2 samples (14.3%). TP53 mutation was detected in 10 cases (40%), of which seven patients had HGSC (70%). The presence of a KRAS mutation was found in 3 patients (12%) with the morphology of endometrial cancer (2 cases, 66.7%) and HGSC (1 case, 33.3%). A relatively rare AR mutation was also detected in one patient (4%).

HRD status correlated with high sensitivity to platinum-based chemotherapy (85.7% – chemosensitive, 14.3% – chemoresistant). Conversely, the presence of KRAS mutation made it possible to attribute the patient to another morphogenetic type, namely, low-grade serous ovarian cancer, and to apply adjuvant hormone therapy.

Conclusions: Molecular genetic profiling allows for clarifying the morphogenetic type of ovarian cancer and adjusting the patient's treatment strategy, considering that it is advisable to carry it out at the stages of primary diagnosis of common OC forms.

Keywords: Ovarian cancer, mutation, genes, molecular profiling, next-generation sequencing.

OPEN ACCESS

DOI: 10.25040/ntsh2024.01.13

For correspondence: 69 Pekarska Street,
Lviv, Ukraine, 79010

E-mail: hrytsay0204@gmail.com

Received: 02 Apr, 2024

Accepted: 06 May, 2024

Published: 28 Jun, 2024

ORCID IDs

Iryna Hrytsay:

<https://orcid.org/0009-0007-0751-6981>

Yuliia Mazur:

<https://orcid.org/0000-0001-9319-5182>

Severyn Ferneza:

<https://orcid.org/0000-0002-3974-7975>

Oksana Mykolaivna Sulaieva:

<https://orcid.org/0000-0002-9614-4652>

Volodko Nataliia:

<https://orcid.org/0000-0002-4478-5554>

Disclosures: The laboratory part of the work was carried out at the expense of a grant from the CSD laboratory.

Author Contributions:

Conceptualization: Nataliia Volodko, Iryna Hrytsay;

Results of study: Iryna Hrytsay, Nataliia Volodko, Yuliia Mazur, Severyn Ferneza, Oksana Sulaieva;

Writing: Iryna Hrytsay, Nataliia Volodko, Yuliia Mazur;

Review & editing: Nataliia Volodko, Iryna Hrytsay, Severyn Ferneza.

Ethical approval: The study was approved by the local Ethics Commission of Lviv Regional Cancer Center.

Funding: The authors received no financial support for their study.



© All authors, 2024

Вступ

На підставі даних Міжнародного агентства з дослідження раку (International Agency for Research on Cancer, IARC), міжурядової організації у складі Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я (ВООЗ), у рамках проєкту Globocan, у 2022 році у світі було зареєстровано 324,603 нових випадків раку яєчників (РЯ) [1]. За даними Національного канцер-реєстру України (оперативні дані) у 2021 році захворюваність на РЯ становила 14.3 випадків на 100 тис. жінок, натомість смертність – 6.7 випадків на 100 тис. жінок (стандартизований показник, український стандарт) [2].

З огляду на відсутність ефективних скринінгових програм для виявлення передраків і ранніх стадій РЯ та особливості патогенезу цього типу пухлин, близько 75% випадків РЯ виявляється на пізніх стадіях. П'ятирічна виживаність пацієток із III стадією захворювання становить лише близько 24%, із IV стадією – 4,6% [3].

Донедавна класична біопсія та визначення стадії захворювання були основними критеріями, на підставі яких формувалася стратегія лікування пацієток із РЯ. Проте результати досліджень останніх декад продемонстрували, що РЯ є гетерогенною групою захворювань, що відрізняються не тільки морфологічно, а й за молекулярно-генетичними параметрами пухлин.

Кожна пухлина унікальна і містить індивідуальну комбінацію генетичних порушень, які визначають її агресивність і відповідь на терапію. На основі молекулярного профілювання, визначаючи функціональну активність окремих генів, можливо виявити потенційну чутливість пухлини до певного виду системної терапії та спрогнозувати характер подальшого перебігу захворювання.

Згідно з рекомендаціями NCCN (2024), на етапі діагностики при морфологічній верифікації РЯ пацієткам треба проводити оцінку генетичного ризику, досліджуючи спадкові (гермінальні) мутації у периферичній крові та соматичні мутації – в пухлинній тканині. Водночас рекомендації щодо тестування на наявність спадкових та соматичних мутацій навмисно достатньо широкі і дають змогу лікуючому лікарю вибирати будь-які моле-

кулярні тести, необхідні для оцінки сімейної історії раку та індивідуальних генетичних пошкоджень у пухлині. Зокрема, вже на початковому діагностичному етапі рекомендовано проводити тестування на наявність мутацій генів BRCA1/2, дослідити втрату гетерозиготності (LOH), визначити наявність дефіциту гомологічної рекомбінації (HRD) за відсутності спадкових мутацій BRCA. У випадку рецидивування РЯ панель молекулярних досліджень пропонується розширити, додаючи Her2 Neu, MSI, BRAF, FRC, RET, NTRk [4].

Молекулярне тестування гістологічного матеріалу виконують методом NGS. Цей метод дає змогу сформувати цілісну картину щодо молекулярного профілю пухлин, виявляючи множинні генетичні зміни, включно із точковими мутаціями, делеціями, інсерціями, злиттям, зміною кількості копій генів, та інші структурні перебудови із високою чутливістю та специфічністю [5–9].

Молекулярне тестування проводиться на 32 генах, що належать до групи генів репарації шляхом гомологічної рекомбінації (HRR) та генів сигнальних шляхів, а саме: AR, ATM, ATR, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDK12, CHEK1, CHEK2, ESR1, FANCA, FANCL, HDAC2, HOXB13, MRE11, NBN, PALB2, PPP2R2A, PTEN, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD54L, STK11 та TP53 (в екзонах, що кодують, і межах «екзон-інтрон») і в зонах «гарячих точок» генів BRAF, ERBB2, KRAS, NRAS, PIK3CA [10–13].

HRR – це група генів, які відповідають за складний процес відновлення ДНК шляхом гомологічної рекомбінації. Гени, залучені в цю систему, беруть участь у відновленні серйозних пошкоджень ДНК, у тому числі дволанцюгових розривів. Така репарація відбувається шляхом залучення матеріалу гомологічної хромосоми. При мутаціях в генах системи HRR можливість відновлення дволанцюгових розривів і значних пошкоджень ДНК є обмеженою. Помилки (мутації) накопичуються, і ризик розвитку злоякісних пухлин зростає [14–17].

Водночас наявність мутацій у генах системи HRR може сенсibilізувати пухлини до платиновмісної хіміотерапії та інгібіторів полі(аденозиндифосфату [АДФ]-рибо-

Introduction

Based on data from the International Agency for Research on Cancer (IARC), an inter-governmental organization within the World Health Organization (WHO), as part of the Globocan project, 324,603 new cases of ovarian cancer (OC) were registered worldwide in 2022.[1] According to the National Cancer Registry of Ukraine (operational data), the incidence of OC was 14.3 cases per 100,000 women in 2021, while the mortality rate was 6.7 cases per 100,000 women (standardized indicator, Ukrainian standard)[2].

Given the lack of effective screening programs for detecting pre-cancer and early stages of OC and the specifics of the pathogenesis of this tumor type, about 75% of OC cases are identified at late stages. The five-year survival rate of patients with stage III of the disease is only about 24%, with stage IV at 4.6%.[3]

Until recently, classic biopsy and determination of the disease stage were the main criteria used to decide on the treatment strategy for patients with OC. However, research in recent decades has shown that OC is a heterogeneous group of diseases that differ not only morphologically but also in the molecular genetic parameters of tumors.

Each tumor is unique and contains an individual combination of genetic abnormalities that determine its aggressiveness and response to therapy. Based on molecular profiling, which determines the functional activity of particular genes, the tumor's potential sensitivity to a certain type of systemic therapy may be identified to predict the disease's further course.

According to the NCCN's recommendations (2024), patients should be assessed for genetic risk by examining hereditary (germinal) mutations in peripheral blood and somatic mutations in tumor tissue at the stage of diagnosis through morphological verification of OC. At the same time, the guidelines for testing for the presence of hereditary and somatic mutations are deliberately broad enough to allow the attending physician to choose any molecular tests necessary to assess the family history of cancer and individual genetic damage in the tumor. In particular, testing for the presence of BRCA1/2 gene mutations, inves-

tigating loss of heterozygosity (LOH), and determining the presence of homologous recombination deficiency (HRD) in the absence of hereditary BRCA mutations is recommended already at the initial diagnostic stage. In case of OC recurrence, it is proposed to expand the panel of molecular studies by adding Her2 Neu, MSI, BRAF, FRc, RET, and NTRk [4].

Molecular testing of histological material is carried out using the NGS method. This method provides a comprehensive picture of the tumors' molecular profiles by detecting multiple genetic changes, including point mutations, deletions, insertions, fusions, gene copy number changes, and other structural rearrangements, with high sensitivity and specificity.[5–9]

Molecular testing is performed on 32 genes belonging to the group of repair genes by homologous recombination (HRR) and signaling pathway genes, namely: AR, ATM, ATR, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDK12, CHEK1, CHEK2, ESR1, FANCA, FANCL, HDAC2, HOXB13, MRE11, NBN, PALB2, PPP2R2A, PTEN, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD54L, STK11, and TP53 (in coding exons and exon/intron boundaries) and in the hot spots of BRAF, ERBB2, KRAS, NRAS, RIKSSA genes.[10–13]

HRR is a group of genes responsible for the complex process of DNA repair by homologous recombination. Genes involved in this system are engaged in the repair of severe DNA damage, including double-strand breaks. Such repair occurs by involving the material of the homologous chromosome. In the case of mutations in the HRR system genes, the ability to repair double-strand breaks and significant DNA damage is limited. Errors (mutations) accumulate, increasing the risk of developing malignant tumors.[14–17]

At the same time, mutations in the genes of the HRR system may sensitize tumors to platinum-based chemotherapy and inhibitors of poly(adenosine diphosphate [ADP]-ribose) polymerase (PARP inhibitors), where the point of application is the alternative PARP pathway of DNA repair. Thus, it is impossible to repair tumor DNA after damage caused by chemotherapeutic agents [18–20]. However, there is currently no standardized diagnostic method

зи) полімерази (PARP-інгібіторів), точкою прикладення яких є альтернативний, PARP шлях репарації ДНК, тим самим унеможливаючи відновлення пухлинної ДНК після пошкоджень, спричинених застосуванням хіміотерапевтичних середників [18–20]. Однак сьогодні не існує стандартизованого діагностичного методу визначення та оцінки HRD статусу у пацієток із РЯ в клінічних умовах. Імплементация такого методу може допомогти оптимізувати використання цього біомаркера для селекції пацієток для системної таргетної терапії, що допоможе індивідуалізувати підхід до лікування пацієток із РЯ, зокрема із пізніми стадіями захворювання, та значуще підвищити ефективність застосованого лікування [3].

Матеріали та методи

Ми провели ретроспективне дослідження, у яке було включено 30 пацієток із РЯ III-IV стадії, що перебували на стаціонарному лікуванні у ЛОРЛДЦ протягом 2019-2023 років, і дали згоду на використання клінічних даних та операційного матеріалу з дослідницькою метою.

Критерії включення: вік ≥ 18 років, патогістологічно підтверджений діагноз РЯ, наявність якісного біопсійного матеріалу та загальний стан пацієтки, оцінений за шкалою функціонального стану згідно з Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 0 (нормальний функціональний стан, здатність

виконувати повсякденні дії без обмежень) або 1 (наявність симптомів захворювання, зберігається можливість ходити та здатність до виконання легкої роботи).

Середній вік пацієток становив 61.3 ± 0.9 років (від 45 до 78 років). У 66.7% пацієток ($n=20$) було встановлено статус ECOG 0, у 33.3% ($n=10$) – статус ECOG 1.

Всім пацієткам виконано лапароскопічне стадіювання та визначення індексу перитонеального карциноматозу (index of peritoneal carcinomatosis, PCI). У 26 пацієток (86.7%) встановлено IIIС стадію захворювання, у 4 пацієток (13.3%) – IV стадію.

Опираючись на вищезазначені клініко-інструментальні дані, обрано таку тактику ведення пацієток: у 17 (56.7%) випадках було виконано первинну циторедукцію, 12 (40%) пацієток отримали 3-4 цикли платиновмісної неoad'ювантної хіміотерапії (НАХТ) (паклітаксел +карбоплатин) з відтермінованою циторедукцією та в 1 випадку (3.3%) прийнято рішення про призначення платиновмісної поліхіміотерапії (ПХТ) без подальшого оперативного лікування. У післяопераційному періоді 29 пацієток (96.7%) отримали курс платиновмісної ад'ювантної хіміотерапії (АХТ).

У випадку, якщо рецидив захворювання було діагностовано у межах 12 міс. після

Таблиця 1

Клінічна та морфологічна характеристика пацієток

Характеристика	Підмножинна	Кількість пацієток (n=30)
ECOG статус	0	10 (33.3%)
	1	20 (66.7%)
Матеріал	Первинна пухлина	16 (53.3%)
	Метастаз	14 (46.7%)
Гістологічний підтип	Серозна високозлоякісна карцинома	20 (66.7%)
	Ендометріодна карцинома	7 (23.3%)
	Світлоклітинна карцинома	3 (10%)
Тип досліджуваного зразку	Тканина	28 (93.3%)
	Периферична кров	2 (6.7%)
Стадія захворювання	IIIС	26 (86.7%)
	IV	4 (13.3%)
Отримане лікування	НАХТ	11 (36.7%)
	Операція	29 (96.7%)
	АХТ	29 (96.7%)
	ПХТ	1 (3.3%)

for determining and assessing HRD status in clinical settings in patients with OC. Implementing such a method may help optimize the use of this biomarker in selecting patients for both systemic and targeted therapy. This will allow for personalizing the approach to treating patients with OC, particularly those in the late disease stages, and significantly increase the effectiveness of the applied treatment.[3]

Materials and methods

We conducted a retrospective study, which included 30 patients with III-IV stage OC undergoing inpatient treatment at Lviv Regional Oncology Treatment and Diagnostic Center (LROTDC) from 2019 to 2023. They consented to using their clinical data and operative material for research purposes.

Inclusion criteria: age ≥ 18 years, histopathologically confirmed diagnosis of OC, availability of high-quality biopsy material, and general condition of the patient, assessed on the scale of functional status according to the Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG): 0 (normal functional condition, ability to perform daily activities without limitations) or 1 (presence of disease symptoms, ability to walk and perform light work).

The average patient age was 61.3 ± 0.9 (from 45 to 78). 66.7% of patients ($n=20$) were established to have ECOG 0 status, and 33.3% ($n=10$) had ECOG 1 status.

All patients underwent laparoscopic staging and determination of the peritoneal carcinomatosis index (index of peritoneal carcinomatosis, PCI). Twenty-six patients (86.7%) were found to have stage IIIC of the disease, and four patients (13.3%) had stage IV.

Based on the above clinical and instrumental data, the following patient management tactics were chosen: primary cytoreduction was performed in 17 (56.7%) cases, 12 (40%) patients received 3–4 cycles of platinum-based neoadjuvant chemotherapy (NACT) (paclitaxel + carboplatin) with delayed cytoreduction, and in 1 case (3.3%), a decision was made to prescribe platinum-based polychemotherapy (PCT) without further surgical treatment. In the postoperative period, 29 patients (96.7%) received a course of platinum-based adjuvant chemotherapy (ACT).

If a disease relapse was diagnosed within 12 months after treatment, the tumor was considered resistant to the prescribed PCT; if the relapse was recorded after more than 12 months or was not registered, it was considered -sensitive to PCT.

Most tissue samples were obtained from the primary tumor (53.3%, 16 samples), and the remaining 46.7% (14 samples) were obtained from metastatic sites. According to the results of histological examination of tumor samples, the following morphotypes of OC were identi-

Table 1

Clinical and morphological characteristics of patients

Characteristic	Subset	Number of patients (n=30)
ECOG status	0	10 (33.3%)
	1	20 (66.7%)
Material	Primary tumor	16 (53.3%)
	Metastasis	14 (46.7%)
Histological subtype	High-grade serous carcinoma	20 (66.7%)
	Endometrial carcinoma	7 (23.3%)
	Clear cell carcinoma	3 (10%)
Studied sample type	Tissue	28 (93.3%)
	Peripheral blood	2 (6.7%)
Disease stage	IIIC	26 (86.7%)
	IV	4 (13.3%)
Received treatment	NACT	11 (36.7%)
	Surgery	29 (96.7%)
	ACT	29 (96.7%)
	PCT	1 (3.3%)

завершення лікування, пухлину вважали резистентною до призначеної ПХТ; якщо ж рецидив захворювання було зафіксовано у термін понад 12 міс. або рецидиву зареєстровано не було – чутливою до ПХТ.

Більшість зразків тканини було отримано з первинної пухлини 53.3% (16 зразків), та решта 46.7% (14 зразків) з метастатичних ділянок. За результатами гістологічного дослідження зразків пухлини виявлено такі морфотипи РЯ: у 20 (66.7%) пацієнток підтверджений діагноз серозної високозлоякісної (high grade) карциноми, у 7 (23.3%) пацієнток – ендометріїдної карциноми, у 3 (10%) пацієнток – світлоклітинної карциноми яєчників (Табл. 1).

З метою молекулярного профілювання пухлинні зразки, отримані під час оперативного втручання (лапароскопія або циторедукція), було скеровано в медико-генетичну лабораторію CSD (м. Київ, Україна).

Із використанням методу NGS на платформі Illumina (США) проведено дослідження розширеної NGS панелі для визначення соматичних і спадкових мутацій в генах системи HRR та інших генах [21–23]. Генетичну панель мутацій в 32 генах (NGS) використовували для визначення мутацій кодуючих послідовностей AR, ATM, ATR, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDK12, CHEK1, CHEK2, ESR1, FANCA, FANCL, HDAC2, HOXB13, MRE11, NBN, PALB2, PPP2R2A, PTEN, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD54L, STK11 і TP53 (в кодуючих екзонах і межах «екзон-інтрон») та в зонах «гарячих точок» генів BRAF, ERBB2, KRAS, NRAS, PIK3CA.

Перед виконанням дослідження NGS гістологічний матеріал пройшов попередню реєстрацію та контроль відповідності (NCCN, ESMO). Кожен зразок був промаркований специфічним Q-кодом, що дало змогу відстежувати матеріал пацієнтки на усіх етапах дослідження. На початковому етапі лікар-патолог провів оцінку гістологічних препаратів. Наступний етап дослідження – виділення нуклеїнових кислот. Виділення нуклеїнових кислот (ДНК і РНК) відбулось в окремих робочих зонах у спеціально облаштованих боксах.

Етапи виділення нуклеїнових кислот.

Депарафінізація дозволяє виділити із зрізів блоку парафін та отримати суто тканинний матеріал для подальшої обробки.

Лізис – цей процес спрямований на руйнування оболонки клітин.

Відмивка, що дає гарантію отримання чистої нуклеїнової кислоти без домішок та інгібіторів.

Елюція – передбачає виділення ДНК або РНК з фільтру колонки.

Контроль якості – вимірювання концентрації ДНК чи РНК на спектрофотометрі.

Після отримання виділених нуклеїнових кислот проведено процес підготовки бібліотек – це ланцюг з послідовних модифікацій нуклеїнової кислоти спрямований на формування порівняно коротких фрагментів ДНК з індивідуальними ідентифікаторами. До кінців кожного фрагменту приєднують специфічні мітки в складі адаптерів. Кожна така мітка має унікальний молекулярний штрих-код, що допомагає ідентифікувати зразки різних пацієнтів, а адаптери дають змогу цим фрагментам зв'язатися з поверхнею аналізатора, на якій відбувається реакція. Наступний етап – секвенування.

В основі методу секвенування Illumina NGS є такі інноваційні технології як «секвенування методом синтезу» з міченими нуклеотидами, брідж-ампліфікація, та технологія кластеризації молекул ДНК. В апарат NGS генетик завантажив картридж з реагентами для секвенування та чіп, на якому відбувається детекція. Повний процес секвенування тривав від 20 до 32 годин. Показники реакції відображались на екрані монітора і це дало змогу аналізувати послідовність нуклеотидів у складі нуклеїнових кислот як є насправді.

Інтерпретація виявлених генетичних порушень відбувалась відповідно до рекомендацій ACMG, ENIGMA Consortium та ACGS [5,8,24].

Результати молекулярного профілювання були розглянуті та обговорені під час мультидисциплінарних засідань за участі лікаря гінеколога-онколога, хіміотерапевта, променевого терапевта, патоморфолога та медичного генетика.

fied: in 20 (66.7%) patients, the diagnosis of high-grade serous carcinoma was confirmed, 7 (23.3%) patients- had endometrial carcinoma, and 3 (10%) patients- had clear cell carcinoma of the ovaries (Table 1).

For the purpose of molecular profiling, tumor samples obtained during surgery (laparoscopy or cytoreduction) were sent to the CSD medical and genetic laboratory (Kyiv). Using the NGS method on the Illumina platform (USA), an extended NGS panel was studied to determine somatic and hereditary mutations in HRR system genes and other genes.[21–23] A genetic panel of mutations in 32 genes (NGS) was used to identify mutations in the coding sequences of AR, ATM, ATR, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDK12, CHEK1, CHEK2, ESR1, FANCA, FANCL, HDAC2, HOXB13, MRE11, NBN, PALB2, PPP2R2A, PTEN, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD54L, STK11 and TP53 (in coding exons and exon/intron boundaries) and in hot spots of BRAF, ERBB2, KRAS, NRAS, PIK3CA genes.

Histological material underwent pre-registration and compliance control (NCCN, ESMO) prior to performing the NGS study. Each sample was marked with a specific Q-code, which allowed tracking of the patient's material at all stages of the study. At the initial stage, the pathologist evaluated the histological preparations. The next stage of research is the isolation of nucleic acids. Nucleic acids (DNA and RNA) were extracted in separate working areas in designated equipped boxes.

Stages of nucleic acid extraction:

Deparaffinization allows for extracting paraffin from block sections and obtaining purely tissue material for further processing.

Lysis is the process aimed at the destruction of cell membranes.

Washing guarantees obtaining pure nucleic acid without impurities and inhibitors.

Elution involves separating DNA or RNA from the column filter.

Quality control means measuring the concentration of DNA or RNA on a spectrophotometer.

After receiving isolated nucleic acids, the library preparation process takes place. This chain of successive nucleic acid modifications aims to shape relatively short DNA fragments with individual identifiers. Specific tags in the adapters are attached to the ends of each fragment. Each tag has a unique molecular barcode that identifies samples from different patients. In contrast, adapters allow these fragments to bind with the analyzer's surface where the reaction occurs. The next step is sequencing.

The Illumina NGS sequencing method is based on such innovative technologies as "sequencing by synthesis" with labeled nucleotides, bridge amplification, and DNA molecule clustering technology. The geneticist loaded a cartridge with agents for sequencing and a chip where the detection takes place into the NGS device. The entire sequencing process took 20 to 32 hours. Reaction indicators were displayed on the monitor screen, allowing for analysis of the sequence of nucleotides in the composition of nucleic acids. Detected genetic disorders were interpreted according to the ACMG, ENIGMA Consortium and ACGS recommendations.[5,8,24]

The molecular profiling results were reviewed and discussed during multidisciplinary meetings with the participation of a gynecologist-oncologist, a chemotherapist, a radiation therapist, a pathomorphologist and a medical geneticist.

Research results were statistically processed using Microsoft Excel and Statistica 12 statistical analysis package (StatSoft, USA).

During the statistical processing of obtained data, relative and average values were analyzed. Study results are represented by the arithmetic mean value and the standard error of the arithmetic mean value ($M \pm m$).

A correlation analysis was conducted using the parametric correlation method to identify and assess relationships between quantitative indicators, with Pearson's linear correlation coefficient (r -Pearson) determined with a confidence interval of 95%. A negative value of the coefficient was interpreted as an inverse (negative, negative) relationship between the studied values, a positive one – as a directly proportional (direct, positive) relationship, and a value of 0 – as no relationship. Accord-

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою пакета статистичного аналізу Microsoft Excel та Statistica 12 (Statsoft, USA).

При статистичній обробці отриманих даних проводили аналіз відносних і середніх величин. Результати дослідження представлені середнім арифметичним значенням і стандартною похибкою середнього арифметичного значення ($M \pm m$).

Для виявлення та оцінки взаємозв'язків між кількісними показниками проводився кореляційний аналіз методом параметричної кореляції з визначенням лінійного коефіцієнта кореляції Пірсона (r -Pearson) з довірчим інтервалом 95%. Від'ємне значення коефіцієнта трактували як зворотний (негативний, від'ємний) зв'язок між досліджуваними величинами, додатне – як прямо пропорційний (прямий, позитивний) зв'язок, значення 0 – як відсутність зв'язку. За силою зв'язку кореляційну залежність вважали тісною (сильною) при $r=0,70-1$, середньої сили – при $r=0,30-0,69$, слабкою – при $r=0,01-0,29$.

Результати

Розподіл мутацій виявлених при застосуванні молекулярно-діагностичної панелі зображено на Рис.1.

При аналізі результатів молекулярного профілювання пухлин (див. рис.) виявлено, що найчастіше виявлялися мутації генів TP53 (34.2%, в 11 зразках пухлини), BRCA-1 (20.6%, у 7 зразках) та BRCA-2 (11.8%, у

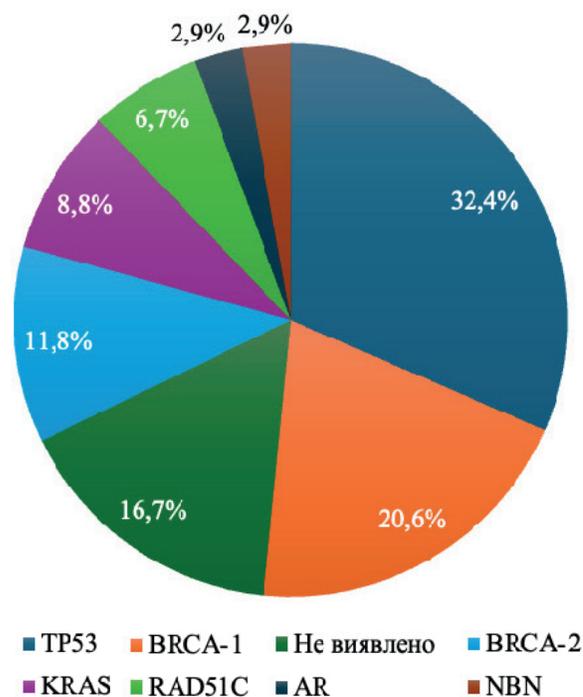


Рисунок 1. Структура мутацій, виявлених при молекулярному профілюванні пухлини у досліджуваній когорти пацієнтів

4 зразках). У 16.7% випадків (у 6 зразках пухлини) не було виявлено мутацій у жодному із генів панелі. Крім того, у 2 пацієнтів (6.7%) встановлено одночасну наявність мутацій двох генів (TP53 і RAD51C, а також TP53 та AR) і в 1 пацієнтки (3.3%) – трьох генів (TP53, BRCA1 та KRAS).

Серед обстежених 30 зразків мутаційні зміни було виявлено в 23 випадках (76.7%) у гістологічному матеріалі та у 2-х випад-

Таблиця 2

Структура частоти виявлення мутацій, морфотипів і чутливості пухлин до ПХТ у досліджуваній когорти пацієнтів

Мутація	Гістологічний тип пухлини			Чутливість до ПХТ	
	Високозлоякісна серозна карцинома	Ендометріоїдна карцинома	Світлоклітинна карцинома	Чутлива	Нечутлива
TP53	7	3	1	8	4
BRCA1	5	2	-	6	1
BRCA2	4	-	-	3	1
KRAS	1	2	-	2	1
RAD51C	-	1	1	2	-
NBN	-	-	1	-	1
AR	1	-	-	1	-
Не виявлено	3	2	-	4	1
Разом	20	7	3	22	8

ing to the strength of the relationship, the correlation dependence was considered close (strong) at $r=0.70-1$, medium at $r=0.30-0.69$, and weak at $r=0.01-0.29$.

Results

The distribution of mutations identified using the molecular diagnostic panel is presented in Fig. 1.

When analyzing the results of molecular profiling of tumors (Fig. 1), mutations of the genes TP53 (34.2%, in 11 tumor samples), BRCA-1 (20.6%, in 7 samples), and BRCA-2 (11.8%, in 4 samples) were found. In 16.7% of cases (in 6 tumor samples), no mutations were identified in any of the panel genes. In addition, two patients (6.7%) were found to have mutations in two genes (TP53 and RAD51C, as well as TP53 and AR), and one patient (3.3%) had mutations in three genes (TP53, BRCA1 and KRAS).

Among the 30 samples examined, mutational changes were detected in 23 cases (76.7%) of histological material and in 2 cases (6.7%) of peripheral blood. Out of 25 cases, DNA repair deficiency by homologous recombination (HRD status) was detected in 14 samples (56%), distributed by tumor morphotype as follows: high-grade serous carcinoma – 9 samples (64.3%), endometrial cancer – 3 samples (21.4%) and clear cell carcinoma – 2 samples (14.3%) (Table 2).

The application of molecular profiling of tumor samples made it possible to identify the inconsistency of the tumor’s mutational profile with pathomorphological findings and to correct

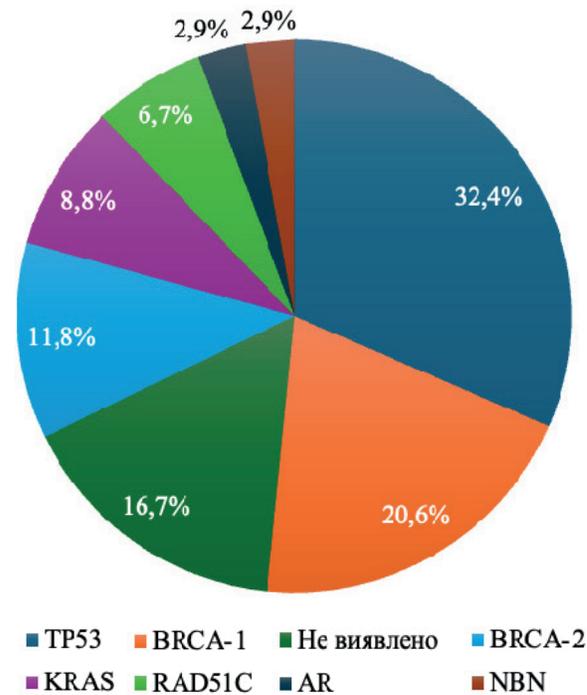


Figure 1. The structure of mutations identified during molecular profiling of the tumor in the studied cohort of patients

the treatment plan. In particular, the presence of HRD status was established in patients with high-grade serous OC but also in three patients with endometrial carcinoma and one patient with clear cell morphology.

According to correlation analysis results, we found that the frequency of detecting sensitivity to platinum-based PCT was reliably combined with the presence of a BRCA-2 gene mutation ($r=0.45$, $p<0.05$).

Table 2

The structure of the frequency of mutations, morphotypes and sensitivity of tumors to PCT in the studied cohort of patients

Mutation	Histological tumor type			Sensitivity to PCT	
	High-grade serous carcinoma	Endometrial carcinoma	Clear cell carcinoma	Sensitive	Insensitive
TP53	7	3	1	8	4
BRCA1	5	2	-	6	1
BRCA2	4	-	-	3	1
KRAS	1	2	-	2	1
RAD51C	-	1	1	2	-
NBN	-	-	1	-	1
AR	1	-	-	1	-
Not Found	3	2	-	4	1
Total	20	7	3	22	8

ках (6.7%) – в периферичній крові. Із 25 випадків дефіцит репарації ДНК шляхом гомологічної рекомбінації (HRD статус) був виявлений у 14 зразках (56%), розподілялись за морфотипом пухлини так: серозна високозлоякісна карцинома – 9 зразків (64.3%), ендометріодний рак – 3 зразки (21.4%) та світлоклітинна карцинома – 2 зразки (14.3%) (Табл. 2).

Застосування молекулярного профілювання пухлинних зразків допомогло виявити невідповідність мутаційного профілю пухлини патоморфологічним знахідкам і внести корективи в план лікування. Зокрема, наявність HRD статус було виявлено не лише у пацієнок із серозним високозлоякісним (high grade) РЯ, а й у 3-х пацієнок із ендометріодною карциномою та в 1-ї пацієнтки зі світлоклітинною морфологією.

Зауважимо також, що згідно з результатами кореляційного аналізу, ми з'ясували, що частота виявлення чутливості до платиновмісної ПХТ достовірно поєднувалась із наявністю мутації гена BRCA-2 ($r=0.45$, $p<0.05$).

Отримані дані дали змогу обґрунтувати застосування ПХТ із включенням препаратів-похідних платини як протирецидивного лікування. Крім того, двом пацієнткам із ендометріодною карциною яєчників було застосовано підтримуючу терапію із застосуванням препарату із групи PARP-інгібіторів з вираженим клінічним ефектом.

Зазначимо також, що виявлення наявності мутації у гені KRAS у пацієнтки з первинним морфологічним діагнозом серозного високозлоякісного РЯ обґрунтувало доцільність перегляду гістологічного матеріалу в референтній морфологічній лабораторії та додаткового застосування імуногістохімічного дослідження (з визначенням експресії WT-1, PR-рецепторів, напсину А та p53). Надалі було уточнено патоморфологічний діагноз (серозний низькозлоякісний (low grade) РЯ). На підставі цього висновку було внесено зміни в план ад'ювантної терапії (застосування гормонотерапії).

Обговорення

Сьогодні стандартом лікування пацієнок із епітеліальним РЯ є хірургічна циторедукція та системна ПХТ із застосуванням пре-

паратів платини та таксанів. У разі неможливості виконання циторедукції в повному об'ємі, лікування розпочинається з неoad'ювантної ПХТ. На жаль, для більшості пацієнок із пізніми стадіями РЯ немає достатнього ефективного варіанта лікування для зниження ризику прогресування захворювання після хіміотерапевтичного лікування першої лінії з огляду на низку факторів, враховуючи загальний стан, супутню соматичну патологію, тривалість первинної відповіді на лікування, побічні явища, гістологічні особливості пухлини, локалізацію, а також молекулярно-генетичні чинники [8,25]. Проте використання таргетної терапії може змінити традиційну парадигму.

Препарати, що належать до групи PARP-інгібіторів, продемонстрували свою ефективність як монотерапія в лікуванні рецидивуючого РЯ та підтримуючої терапії у пацієнок чутливих до терапії на основі платини [15,18]. Дефіцит гомологічної рекомбінації (HRD) є типовою характеристикою серозного РЯ високого ступеня злоякісності [15]. Недавні клінічні дослідження продемонстрували її прогностичний потенціал, зокрема при плануванні відповіді пацієнок на терапію на основі платини та відповіді на PARP-інгібітори [18–20]. Згідно з даними The Cancer Genome Atlas, HRD-позитивний статус є найпоширенішою генетичною зміною при РЯ (69%) [12], зокрема при серозному високозлоякісному РЯ. Зазначимо, що HRD, значуще рідше, але все ж може також бути виявлений у пухлинах іншої морфологічної структури (ендометріодний, світлоклітинний РЯ) [15]. Найчастіше HRD-позитивний статус асоціюється з мутаціями із втратою функції та епігенетичними модифікаціями BRCA1/2 або інших генів, що також відіграють вагомую роль у HRR, враховуючи RAD51C/D, PALB2, ATM, H2AX, MRE11, RPA, BRIP1, BARD1, RAD51 [15,16].

Мутація гена TP53 виявлена в 34% хворих з усіх досліджуваних підтипів раку яєчника, що є рідше ніж представлено в інших досліджуваних групах [26]. Мутації гена TP53 є однією із найпоширеніших змін при онкологічних захворюваннях людини. Відмінності в результатах нашого дослідження можуть бути пов'язані з можливістю дослідити більшу кількість генів, які також беруть участь у

The obtained data made it possible to justify the use of PCT with the inclusion of platinum-derivative drugs as an anti-relapse treatment. In addition, supportive therapy with a drug from the PARP inhibitor group applied to the 2nd patient with endometrioid ovarian cancer had a pronounced clinical effect.

It should be noted that the detection of a mutation in the KRAS gene in a patient with a primary morphological diagnosis of high-grade serous OC substantiated the feasibility of reviewing the histological material in a reference morphological laboratory and the additional use of an immunohistochemical study (determining the expression of WT-1, PR receptors, napsin A and p53). The pathomorphological diagnosis (low-grade serous OC) was clarified in the future. Based on this conclusion, changes were made to the adjuvant therapy plan (hormonal therapy).

Discussion

Today, the standard treatment for patients with epithelial OC is surgical cytoreduction and systemic PCT, which uses platinum-based drugs and taxanes. If complete cytoreduction is not possible, treatment begins with neoadjuvant PCT. Unfortunately, for the majority of patients with late stages of OC, there is no sufficiently effective treatment option to reduce the risk of disease progression after first-line chemotherapy due to a number of factors, including general condition, concomitant somatic pathology, duration of the initial response to treatment, adverse events, histological features of the tumor, localization, as well as molecular genetic factors.[8,25] However, the implementation of targeted therapy can change the traditional paradigm.

Drugs included to the PARP inhibitor groups have demonstrated their effectiveness as monotherapy in the treatment of recurrent OC and maintenance therapy in patients sensitive to platinum-based therapy.[15,18] Homologous recombination deficiency (HRD) is a typical characteristic of high-grade serous OC.[15] Recent clinical studies have demonstrated its prognostic potential for evaluating patient response to platinum-based therapy and PARP inhibitors.[18–20] According to The Cancer Genome Atlas, HRD-positive status is the most common change in OC (69%),[12]

particularly high-grade serous OC. Noteworthy, HRD is significantly less common but can still be detected in tumors of a different morphological structure (endometrial, clear cell carcinoma).[15] Most often, HRD-positive status is associated with loss-of-function mutations and epigenetic modifications of BRCA1/2 or other genes that also play a significant role in HRR, including RAD51C/D, PALB2, ATM, H2AX, MRE11, RPA, BRIP1, BARD1, RAD51.[15,16]

Mutation of the TR53 gene was found in 34% of patients from all studied subtypes of ovarian cancer, which is less common than in other studied groups.[26] Mutations of the TR53 gene are one of the most common changes in human cancer. Differences in our study's results may be related to the opportunity to investigate a larger number of genes involved in carcinogenesis that have not been investigated before.

The mutation of the BRCA-1 gene was detected with a frequency of 25% in the HGSOC group, which corresponds to the observations of other researchers in this morphological subtype.[15]

The distinction between functionally HRD-positive and HRD-negative tumors is crucial from a clinical perspective. Determining patients' HRD status can help stratify them, identifying those more likely to benefit from a maintenance strategy with PARP inhibitors or bevacizumab as the first-line treatment and certainly those for whom it would be appropriate to reconsider primary therapy, too.

Based on the available data, universal HRD testing by molecular profiling of tumor samples would be extremely useful in understanding individualized maintenance therapy options for patients with late-stage OC after response to first-line platinum-based PCT. Unfortunately, access to HRD testing in many countries, including Ukraine, is currently limited, particularly for economic and technological reasons. However, the usefulness of such testing is obvious, as can be seen in the presentation of our clinical case.

Presentation of the clinical case

Patient S., born in 1950, came to LROTDC in August 2020 with complaints of general weak-

канцерогенезі і раніше не досліджувались.

Мутація гена BRCA-1 виявлена з частотою 25% в групі СВЗРЯ, що відповідає спостереженням інших дослідників і в цьому морфологічному підтипі [15].

З клінічного погляду, відмінність між функціонально HRD-позитивними та HRD-негативними пухлинами є вирішальною. Встановлення HRD-статусу пацієнток може допомогти стратифікувати пацієнток, виокремивши тих, які з більшою вірогідністю отримають користь від стратегії підтримуючої терапії на основі PARP-інгібіторів або бевацизумабу в першій лінії лікування, а також, безумовно, тих, для яких доцільним буде переглянути також і первинну систему терапію.

Базуючись на наявних даних, універсальне тестування HRD шляхом молекулярного профілювання пухлинних зразків було б винятково корисним для розуміння індивідуальних варіантів підтримуючої терапії для пацієнток із пізнім стадіями РЯ після відповіді на першу лінію ПХТ на основі платини. На жаль, наразі доступ до тестування HRD у багатьох країнах, у тім числі і в Україні, обмежений, зокрема з економічних і технологічних міркувань. Водночас доцільність таких досліджень є очевидною, про що може свідчити презентація наступного клінічного випадку.

Пацієнтка С., 1950 р.н., у серпні 2020 року звернулась в ЛОРЛДЦ зі скаргами на загальну слабкість, збільшення живота у розмірах, закрепи. Проведені клініко-лабораторні та інструментальні обстеження згідно з локальними протоколами та встановлено діагноз: рак яєчників pT1cpN1M1 IV ст.

Оперативне втручання виконано 04.08.2020 року. в об'ємі лапароскопії, оментектомії, біопсії тазових лімфовузлів. Гістологічно підтверджено метастаз серозної папілярної карциноми G3.

Додатково виконано імуногістохімічне дослідження: імунофенотип пухлини свідчив на користь ендометріоїдної аденокарциноми. Після отриманих результатів сплановано і виконано 03.09.2020 року оперативне втручання в об'ємі абдомінальної гістеректомії з радикальним висіченням тазових лім-

фатичних вузлів і циторедукції інтраабдомінального ураження.

При дослідженні післяопераційного матеріалу в тканинах лівої маткової труби виявлено морфологічні ознаки ендометріоїдної аденокарциноми G3 (high grade) з ділянками ерозної карциноми high grade; у тазових лімфовузлах справа (конгломерат) – метастази карциноми (з переважанням структури серозної карциноми high grade); в матеріалі, отриманому із очеревини, – метастази карциноми.

Додатково пацієнтці проведено молекулярно-генетичне тестування. За допомогою методу NGS було досліджено 32 гени системи HRR та інші гени і виявлено патогенну мутацію гена RAD51C та гена TP53.

З 30.09.2020 року пацієнтка розпочала курс АХТ за стандартною схемою препарат групи таксанів і платини в стандартних дозах. Пацієнтка отримала 6 циклів. Ефективність лікування оцінювали за допомогою комп'ютерної томографії з контрастуванням з оцінкою на основі Критеріїв оцінки відповіді при солідних пухлинах (RECIST), версія 1.1 (RECIST 1.1) [27]. Після 6 циклів АХТ розпочала підтримуючу терапію препаратом із групи PARP-інгібіторів перорально 1 раз на день.

На цей момент пацієнтка продовжує підтримуючу терапію. Згідно з даними комп'ютерної томографії за 27.02.2024 року: стан після комбінованого лікування раку яєчників. Клубова і пахвинна лімфаденопатія з ознаками регресії. Немає появи нових вогнищ.

Пацієнтка відчувається добре, лікування переносить задовільно, якість життя задовільна.

У висновках:

Запропонована панель молекулярного тестування продемонструвала високу клінічну ефективність і дала змогу скорегувати план лікування пацієнток із поширеним РЯ.

Генетичне тестування треба виконувати на початкових етапах лікувально-діагностичного процесу, що допоможе імплементувати індивідуалізований менеджмент пацієнток та оптимізувати вибір системної і/або тар-

ness, increased abdomen size, and constipation. Clinical laboratory and instrumental examinations were carried out according to local protocols, and the diagnosis of ovarian cancer pT1srN1M1 stage IV was made.

On August 4, 2020, a laparoscopy, omentectomy, and biopsy of pelvic lymph nodes were performed. Metastasis of serous papillary carcinoma G3 was confirmed histologically.

An additional immunohistochemical study was performed: the immunophenotype of the tumor confirmed the endometrial adenocarcinoma. Based on the results, surgical intervention consisting in abdominal hysterectomy with radical excision of pelvic lymph nodes and cytoreduction of the intra-abdominal lesion was planned and performed on September 3, 2020.

When examining the postoperative material in the tissues of the left fallopian tube, morphological signs of G3 (high-grade) endometrial adenocarcinoma with areas of high-grade erosive carcinoma were found; carcinoma metastases (with a predominance of the high-grade serous carcinoma structure) were found in pelvic lymph nodes on the right (conglomerate); carcinoma metastases were identified in the material obtained from the peritoneum.

In addition, the patient underwent molecular genetic testing. Using the NGS method, 32 genes of the HRR system and other genes were investigated, and a pathogenic mutation of the RAD51C gene and the TP53 gene was detected.

On September 30, 2020, the patient began a course of ACT according to the standard reg-

imen of taxane group drugs and platinum in standard doses. The patient received six cycles. Treatment efficacy was assessed by contrast-enhanced computed tomography with response evaluation criteria for solid tumors (RECIST), version 1.1 (RECIST 1.1).[27] After six cycles of ACT, the patient started maintenance therapy with a drug from the PARP inhibitor group orally once a day.

At the moment, the patient continues supportive therapy. According to computer tomography data for February 27, 2024, the condition after the combined treatment of ovarian cancer. Lumbar and inguinal lymphadenopathy with signs of regression. There are no new foci.

The patient feels well, tolerates the treatment satisfactorily, and improves the quality of life.

In conclusions:

The proposed molecular testing panel demonstrated high clinical efficiency and allowed for the adjustment of the treatment plan of patients with advanced OC.

Genetic testing should be performed at the initial stages of the treatment and diagnostic process. This will allow for the application of personalized patient management and the optimization of the choice of systemic and/or targeted therapy, which may improve treatment outcomes.

The discrepancy between the tumor's morphological characteristics and the profile of genetic damage requires additional examination and corrections in each patient's treatment strategy.

References

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021;71:209–49. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>.
2. Z. F, Sumkina O, Gorokh Y, Ryzhov A, Goulak L. Onkoepidemiolohichna sytuatsiia ta stan orhanizatsii onkolohichnoi dopomohy v Ukraini, 2020-2021 rr., 2022, p. 4–17
3. Di Donato V, Caruso G, Bogani G, Giannini A, D’Oria O, Perniola G, et al. Preoperative frailty assessment in patients undergoing gynecologic oncology surgery: A systematic review. *Gynecol Oncol* 2021;161:11–9. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.12.030>.
4. 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* 2022;20:972–80. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2022.0047>.

гетної терапії, що також може забезпечити покращення результатів лікування.

Невідповідність між морфологічними характеристиками пухлини та профілем генетичних пошкоджень потребує дообстеження та внесення корективів у стратегію лікування кожної конкретної пацієнтки.

Заява про інформовану згоду: Дослідження було схвалено локальною етичною комісією Львівського регіонального онкоцентру. Кожна з пацієнток ознайомилась з інформованою згодою та підписала її.

Список літератури

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021;71:209–49. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>.
2. Z. F, Sumkina O, Gorokh Y, Ryzhov A, Goulak L. Onkoepidemiolohichna sytuatsiia ta stan orhanizatsii onkolohichnoi dopomohy v Ukraini, 2020-2021 rr., 2022, p. 4–17
3. Di Donato V, Caruso G, Bogani G, Giannini A, D’Oria O, Perniola G, et al. Preoperative frailty assessment in patients undergoing gynecologic oncology surgery: A systematic review. *Gynecol Oncol* 2021;161:11–9. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.12.030>.
4. 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* 2022;20:972–80. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2022.0047>.
5. Mardis ER. The Impact of Next-Generation Sequencing on Cancer Genomics: From Discovery to Clinic. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2019;9:a036269. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a036269>.
6. Mateo J, Chakravarty D, Dienstmann R, Jezdic S, Gonzalez-Perez A, Lopez-Bigas N, et al. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT). *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2018;29:1895–902. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy263>.
7. Daly MB, Pal T, Maxwell KN, Churpek J, Kohlmann W, Alhilli Z, et al. NCCN Guidelines® Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic, Version 2.2024. *J Natl Compr Cancer Netw JNCCN* 2023;21:1000–10. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2023.0051>.
8. Sabour L, Sabour M, Ghorbian S. Clinical Applications of Next-Generation Sequencing in Cancer Diagnosis. *Pathol Oncol Res POR* 2017;23:225–34. <https://doi.org/10.1007/s12253-016-0124-z>.
9. Serrati S, De Summa S, Pilato B, Petriella D, Lacalamita R, Tommasi S, et al. Next-generation sequencing: advances and applications in cancer diagnosis. *OncoTargets Ther* 2016;9:7355–65. <https://doi.org/10.2147/OTT.S99807>.
10. UniProt Consortium. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge. *Nucleic Acids Res* 2019;47:D506–15. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1049>.
11. Nishida E, Gotoh Y. The MAP kinase cascade is essential for diverse signal transduction pathways. *Trends Biochem Sci* 1993;18:128–31. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(93\)90019-J](https://doi.org/10.1016/0968-0004(93)90019-J).
12. A census of human cancer genes | Nature Reviews Cancer n.d. <https://www.nature.com/articles/nrc1299> (accessed April 1, 2024).
13. A comprehensive survey of Ras mutations in cancer - PMC n.d. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3354961/> (accessed April 1, 2024).
14. Ngoi NYL, Tan DSP. The role of homologous recombination deficiency testing in ovarian cancer and its clinical implications: do we need it? *ESMO Open* 2021;6:100144. <https://doi.org/10.1016/j.esmoop.2021.100144>.
15. 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* 2011;29:3008–15. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.34.2980>.
16. Rempel E, Kluck K, Beck S, Ourailidis I, Kazdal D, Neumann O, et al. Pan-cancer analysis of genomic scar patterns caused by homologous repair deficiency (HRD). *NPJ Precis Oncol* 2022;6:36. <https://doi.org/10.1038/s41698-022-00276-6>.
17. Shao C, Wan J, Lam FC, Tang H, Marley AR, Song Y, et al. A comprehensive literature review and meta-analysis of the prevalence of pan-cancer BRCA mutations, homologous recombination repair gene mutations, and homologous recombination deficiencies. *Environ Mol Mutagen* 2022;63:308–16. <https://doi.org/10.1002/em.22505>.

5. Mardis ER. The Impact of Next-Generation Sequencing on Cancer Genomics: From Discovery to Clinic. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2019;9:a036269. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a036269>.
6. Mateo J, Chakravarty D, Dienstmann R, Jezdic S, Gonzalez-Perez A, Lopez-Bigas N, et al. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT). *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2018;29:1895–902. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy263>.
7. Daly MB, Pal T, Maxwell KN, Churpek J, Kohlmann W, AlHilli Z, et al. NCCN Guidelines® Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian, and Pancreatic, Version 2.2024. *J Natl Compr Cancer Netw JNCCN* 2023;21:1000–10. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2023.0051>.
8. Sabour L, Sabour M, Ghorbian S. Clinical Applications of Next-Generation Sequencing in Cancer Diagnosis. *Pathol Oncol Res POR* 2017;23:225–34. <https://doi.org/10.1007/s12253-016-0124-z>.
9. Serrati S, De Summa S, Pilato B, Petriella D, Lacalamita R, Tommasi S, et al. Next-generation sequencing: advances and applications in cancer diagnosis. *OncoTargets Ther* 2016;9:7355–65. <https://doi.org/10.2147/OTT.S99807>.
10. UniProt Consortium. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge. *Nucleic Acids Res* 2019;47:D506–15. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1049>.
11. Nishida E, Gotoh Y. The MAP kinase cascade is essential for diverse signal transduction pathways. *Trends Biochem Sci* 1993;18:128–31. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(93\)90019-J](https://doi.org/10.1016/0968-0004(93)90019-J).
12. A census of human cancer genes | Nature Reviews Cancer n.d. <https://www.nature.com/articles/nrc1299> (accessed April 1, 2024).
13. A comprehensive survey of Ras mutations in cancer - PMC n.d. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3354961/> (accessed April 1, 2024).
14. Ngoi NYL, Tan DSP. The role of homologous recombination deficiency testing in ovarian cancer and its clinical implications: do we need it? *ESMO Open* 2021;6:100144. <https://doi.org/10.1016/j.esmoop.2021.100144>.
15. 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* 2011;29:3008–15. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.34.2980>.
16. Rempel E, Kluck K, Beck S, Ourailidis I, Kazdal D, Neumann O, et al. Pan-cancer analysis of genomic scar patterns caused by homologous repair deficiency (HRD). *NPJ Precis Oncol* 2022;6:36. <https://doi.org/10.1038/s41698-022-00276-6>.
17. Shao C, Wan J, Lam FC, Tang H, Marley AR, Song Y, et al. A comprehensive literature review and meta-analysis of the prevalence of pan-cancer BRCA mutations, homologous recombination repair gene mutations, and homologous recombination deficiencies. *Environ Mol Mutagen* 2022;63:308–16. <https://doi.org/10.1002/em.22505>.
18. 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 randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Lond Engl* 2017;390:1949–61. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32440-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32440-6).
19. González-Martín A, Pothuri B, Vergote I, DePont Christensen R, Graybill W, Mirza MR, et al. Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N Engl J Med* 2019;381:2391–402. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1910962>.
20. Ray-Coquard I, Leary A, Pignata S, Cropet C, González-Martín A, Marth C, et al. Olaparib plus bevacizumab first-line maintenance in ovarian cancer: final overall survival results from the PAOLA-1/ENGOT-ov25 trial. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2023;34:681–92. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2023.05.005>.
21. Loeb LA, Bielas JH, Beckman RA. Cancers exhibit a mutator phenotype: clinical implications. *Cancer Res* 2008;68:3551–7; discussion 3557. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-5835>.
22. Refae AA, Bayer AM, Ibrahim EM, Mansoor I, Saleem NA, Al-Masri OA, et al. Genomic Profiling for Patients with Solid Tumors: A Single-Institution Experience. *Ann Clin Oncol* 2019;2019:1–7. <https://doi.org/10.31487/j.ACO.2019.02.04>.
23. Tomlins SA, Hovelson DH, Suga JM, Anderson DM, Koh HA, Dees EC, et al. Real-World Performance of a Comprehensive Genomic Profiling Test Optimized for Small Tumor Samples. *JCO Precis Oncol* 2021;5:PO.20.00472. <https://doi.org/10.1200/PO.20.00472>.
24. Takeda M, Takahama T, Sakai K, Shimizu S, Watanabe S, Kawakami H, et al. Clinical Application of the FoundationOne CDx Assay to Therapeutic Decision-Making for Patients with Advanced Solid Tumors. *The Oncologist* 2021;26:e588–96. <https://doi.org/10.1002/onco.13639>.
25. Wang R, Wang L, Cui X, Wang S, Chen T, Niu Y, et al. Multimolecular Characteristics and Role of BRCA1 Interacting Protein C-Terminal Helicase 1 (BRIP1) in Human Tumors: A Pan-Cancer Analysis 2022. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1418687/v1>.

18. 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 randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Lond Engl* 2017;390:1949–61. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32440-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32440-6).
19. González-Martín A, Pothuri B, Vergote I, DePont Christensen R, Graybill W, Mirza MR, et al. Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N Engl J Med* 2019;381:2391–402. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1910962>.
20. Ray-Coquard I, Leary A, Pignata S, Cropet C, González-Martín A, Marth C, et al. Olaparib plus bevacizumab first-line maintenance in ovarian cancer: final overall survival results from the PAOLA-1/ENGOT-ov25 trial. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2023;34:681–92. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2023.05.005>.
21. Loeb LA, Bielas JH, Beckman RA. Cancers exhibit a mutator phenotype: clinical implications. *Cancer Res* 2008;68:3551–7; discussion 3557. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-5835>.
22. Refae AA, Bayer AM, Ibrahim EM, Mansoor I, Saleem NA, Al-Masri OA, et al. Genomic Profiling for Patients with Solid Tumors: A Single-Institution Experience. *Ann Clin Oncol* 2019;2019:1–7. <https://doi.org/10.31487/j.ACO.2019.02.04>.
23. Tomlins SA, Hovelson DH, Suga JM, Anderson DM, Koh HA, Dees EC, et al. Real-World Performance of a Comprehensive Genomic Profiling Test Optimized for Small Tumor Samples. *JCO Precis Oncol* 2021;5:PO.20.00472. <https://doi.org/10.1200/PO.20.00472>.
24. Takeda M, Takahama T, Sakai K, Shimizu S, Watanabe S, Kawakami H, et al. Clinical Application of the FoundationOne CDx Assay to Therapeutic Decision-Making for Patients with Advanced Solid Tumors. *The Oncologist* 2021;26:e588–96. <https://doi.org/10.1002/onco.13639>.
25. Wang R, Wang L, Cui X, Wang S, Chen T, Niu Y, et al. Multimolecular Characteristics and Role of BRCA1 Interacting Protein C-Terminal Helicase 1 (BRIP1) in Human Tumors: A Pan-Cancer Analysis 2022. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1418687/v1>.
26. Combined Tumor-Based BRCA1/2 and TP53 Mutation Testing in Ovarian Cancer - PubMed n.d. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37511329/> (accessed April 1, 2024).
27. Schwartz LH, Litière S, de Vries E, Ford R, Gwyther S, Mandrekar S, et al. RECIST 1.1-Update and clarification: From the RECIST committee. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990 2016;62:132–7. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2016.03.081>.

26. Combined Tumor-Based BRCA1/2 and TP53 Mutation Testing in Ovarian Cancer - PubMed n.d. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37511329/> (accessed April 1, 2024).
27. Schwartz LH, Litière S, de Vries E, Ford R, Gwyther S, Mandrekar S, et al. RECIST 1.1-Update and clarification: From the RECIST committee. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990 2016;62:132–7. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2016.03.081>.