

© Карташов С.М., Базарінська Т.В., Багмут І.Ю., Граматюк С.М.

УДК 618.11–006.04–071

DOI <https://doi.org/10.31718/mep.2020.24.3-4.02>

## ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ КРИТЕРІАЛЬНО-ВАЖЛИВІ ПОКАЗНИКИ ЛІМФАНГІОГЕНЕЗУ РАКУ ЯЄЧНИКІВ\*

Карташов С.М., Базарінська Т.В., Багмут І.Ю., Граматюк С.М.

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Харьков, Украина

Поглиблене вивчення біології пухлинного росту допоможе виявити фактори, що дозволяють зрозуміти патогенетичні механізми розвитку процесів метастазування та прогресування раку яєчників (РЯ), а також стати теоретичним обґрунтуванням для розробки нових підходів до лікування даного захворювання. Метою цього дослідження було визначення імуногістохімічних і ендотеліальних критеріально-важливих показників раку яєчників. Для досягнення поставленої мети нами було сформовано вибірку післяопераційних зразків пухлинних тканин яєчників, які були розділені на 3 групи: група порівняння - рак яєчників; основна група - прикордонна пухлина яєчників (ППЯ); доброякісні пухлини яєчників (ДПЯ). Стадіювання проводилося відповідно до класифікації FIGO 2009. Для морфологічної характеристики використовувалася «Міжнародна гістологічна класифікація пухлин жіночої статеві сфери ВООЗ 2013 г.». Визначення рівня ростових факторів - sVEGF-A проводили методом ІФА, з використанням стандартних тест-систем (BenderMedSystem, Австрія). Імуногістохімічні (ІГХ) дослідження матеріалу проводили на серійних парафінових зрізах за стандартною методикою з використанням мишачих моноклональних антитіл до p53 (клон D0-7. Розведення 1: 100. "Dako"). В якості детекційної системи використовували Ventana Medical Systems, Inc.. Проводили позитивні і негативні контрольні реакції. Для оцінки ядерної експресії p53 використовували індекс мітки (ІМ). Для оцінки кількості і ступеня фарбування клітин використовували програми WCIF ImageJ і Aperio Image Scope. Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою програми Statistica 6.0. Результати морфологічних досліджень РЯ показали, що в нашому дослідженні переважали хворі з серозним раком - 78,5%. Другим за частотою було діагностовано недиференційований РЯ. На другому етапі нашого дослідження проведений порівняльний аналіз концентрації p53 в сироватці крові і тканини пацієнток досліджуваних груп показав існування достовірних відмінностей. У групі пацієнток груп ППЯ і ДПЯ як загальна, так і місцева активність білка p53 була достовірно вище ніж в групі порівняння ( $p < 0,05$ ). При цьому відзначалася позитивна кореляція між активністю білка p53 в сироватці крові і тканині яєчників. Показники сироваткового VEGF A статистично значимо корелювали зі стадією захворювання: коефіцієнт рангової кореляції Спірмена  $\rho = 0,30$ ; 95% ДІ = 0,02 - 0,536,  $p < 0,05$ . Кореляції за віком пацієнток, гістологічним підтипом і ступенем диференціювання пухлини отримано не було. З огляду на отриманні результати нашого дослідження, можна зробити висновок, що критеріально-важливими показниками РЯ є сироваткові рівні p53 та показник сироваткового VEGF A, підтвердженням чого є результати ROC-аналізу  $p = 0,0026$ , що свідчить про хорошу інформативності методу.

**Ключові слова:** сироваткові рівні p53, рівень ростових факторів сироваткового VEGF A, сироватка крові хворих на рак яєчників.

An in-depth study of the biology of tumor growth will help to identify factors that allow us to understand the pathogenetic mechanisms of the development of ovarian cancer metastasis and progression, as well as to become a theoretical basis for developing new approaches to the treatment of this disease. The aim of this study was to determine immunohistochemical and endothelial criteria for ovarian cancer. The postoperative samples of ovarian tumor tissues were divided into 3 groups: comparison group - ovarian cancer; main group - borderline ovarian tumor; benign ovarian tumors. The study was conducted according to the FIGO 2009 classification. The International Histological Classification of WHO 2013 Female Genital Tumors was used for morphological characteristics. Level of growth factors - sVEGF-A was performed by ELISA using standard test systems (BenderMedSystem, Austria). IGC material studies were performed on serial paraffin sections using a standard method with murine monoclonal antibodies to p53 (clone D0-7. Dilution 1: 100. "Dako"). Ventana Medical Systems, Inc. was used as the detection system. Positive and negative control reactions were performed. The label index (MI) was used to evaluate p53 nuclear expression. WCIF ImageJ and Aperio Image Scope were used to estimate the number and degree of cell staining. Statistical analysis of the obtained data was performed using Statistica 6.0. The results of morphological studies of ovarian cancer showed that in our study patients with serous cancer predominated - 78.5%. The second most frequently diagnosed cancer was undifferentiated. In the second stage of our study, we conducted a comparative analysis of the concentration of p53 in the serum and tissue of patients in the study groups, which showed the existence of significant differences. In patients of the POY and DOY groups, both total and local p53 protein activity were significantly higher than in the comparison group,  $p < 0.05$ . There was a positive correlation between p53 protein activity in serum and ovarian tissue. Serum VEGF A scores were statistically significantly correlated with the disease stage: Spearman rank correlation coefficient  $\rho = 0.30$ ; 95% CI = 0.02 - 0.536,  $p < 0.05$ . There were no correlations with patients' age, histological subtype, and degree of tumor differentiation. Considering the results of our study, we can conclude that the criterion-important indicators of QA are serum levels of p53 and the index of serum VEGF A, which is confirmed by the results of ROC analysis  $p = 0.0026$ , and indicates a good informativeness of the method.

**Keywords:** serum levels of p53, growth factor level of serum VEGF A, serum of ovarian cancer patients

\* Цитування при атестації кадрів: Карташов С.М., Базарінська Т.В., Багмут І.Ю., Граматюк С.М. Імуногістохімічні критеріально-важливі показники лімфангіогенезу раку яєчників. // Проблеми екології і медицини. – 2020. – Т. 24, № 3-4. – С. 6–10.

### Вступ

Зростання захворюваності і висока частота смертельних випадків зумовлює необхідність пошуку додаткових прогностичних маркерів раку яєчників (РЯ) та впровадження їх в практичну охорону здоров'я для оптимізації та індивідуалізації лікування хворих. У Західній Європі РЯ займає сьоме місце серед причин смертності від злоякісних новоутворень і становить 1-2% від усіх смертей внаслідок ракових захворювань [1]. За даними Національного канцер-реєстру в Україні за 2016 р захворюваність на РЯ становить 27 випадків на 100 тис. жіночого населення [2].

За зведеними даними Міжнародної федерації акушерів і гінекологів (FIGO), 5-річної виживаності при РЯ вдається домогтися тільки у 67,7% хворих, в той час як 22,4% пацієнток гинуть в цей термін спостереження від прогресування пухлинного процесу [3].

«Золотим стандартом» діагностики РЯ на сьогодні є імуногістохімічне (ІГХ) дослідження. Серед різноманіття ІГХ маркерів провідне місце займає р53 і Her-2 / пев. Вважається, що ІГХ позитивна реакція практично повністю залежить від наявності саме р53. Висока частота полумок гена р53 при онкологічних захворюваннях зумовлює підвищений інтерес до даної проблеми і в даний час. Відомо, що близько 50% первинних новоутворень людини мають мутації р53, а в злоякісних пухлинах яєчників мутації даного гена можуть сягати 80% [4 - 6].

Однак, наразі визначення ІГХ-статусу широко використовуються при раку яєчників, проте відсоток так званого «невизначеного» ІГХ-статусу, що виявляє наявність ампліфікації гена: хромогенна *in situ* гібридизація гена (CISH) або дорогого, але більш чутливого методу флюоресцентної *in situ* гібридизації (FISH) становить приблизно 50% [7].

Все це призводить до відсутності ефективних методів скринінгу і патомонічних симптомів на ранніх стадіях розвитку пухлини, що обумовлюють труднощі успішного лікування захворювання. Незважаючи на чутливість РЯ до хіміотерапії, ефективність лікування залишається низькою, оскільки більше 80% первинно виявлених хворих виявляються з III-IV стадіями захворювання [9-10]. Основними причинами неефективності зусиль щодо поліпшення віддалених результатів лікування хворих на РЯ є відсутність уявлень про етіологію і патогенез цієї недуги і чіткої клінічної картини різних стадій захворювання.

Рак яєчників характеризується дисбалансом між про- і антиангіогенними факторами на користь активації ангіогенезу [7, 11]. Прогресування неоплазми при РЯ відбувається зі збільшенням активності пухлинних проангіогенних факторів: епідермального фактора росту (EGF), фактора росту фібробластів (FGF), тромбоцитарного фактора росту (PDGF), фактора некрозу пухлини-α, ангіопетину, інтерлейкінів (ІЛ-6 ІЛ-8 та ін.), а також зменшенням антиангіогенних факторів: ангіостатину, ендостатину та інших [12]. Ангіогенез грає важливу роль у формуванні асцитів, часті клінічної ознаки РЯ, накопичення якого відбувається, в тому числі, через підвищення проникності перитонеальних капілярів. Ключову роль в цьому процесі відіграє VEGF, відомий як «судинний фактор проникності».

Поглиблене вивчення біології пухлинного росту допоможе виявити фактори, що дозволяють зрозуміти патогенетичні механізми розвитку процесів метастазування та рецидивування РЯ, а також стати теорети-

чним обґрунтуванням для розробки нових підходів до лікування даного захворювання.

Метою цього дослідження було визначення імуногістохімічних і ендотеліальних критеріально-важливих показників раку яєчників.

### Матеріали та методи дослідження

Для досягнення поставленої мети нами було сформовано вибірку з післяопераційних зразків пухлинних тканин яєчників, які були розділені на 3 групи:

- група порівняння - рак яєчників (T1-3N0M0, T1-3N0M1) (РЯ n = 46);
- основна група 1 - прикордонна пухлина яєчників (T1-3N0M0) (ППЯ n = 52);
- основна група 2 - доброякісні пухлини яєчників (ДПЯ n = 50).

Вік хворих коливався від 23 до 62 років. З них 50% склали жінки фертильного віку - від 23 до 36 років (n = 26). До групи порівняння увійшли 46 пацієнток з діагнозом рак яєчника у віці від 35 до 78 років. Серед них вікова група від 30 до 40 років складала 14% (n = 6). Велика частина спостережень - 56% (n = 24) - припала на пацієнток у віці 40-60 років. Жінки старше 60 років становили 30% (n = 14).

Стадіювання проводилося відповідно до класифікації FIGO 2009 року в більшості випадків виявлені Іa і Іb стадії захворювання - 33 (63,3%) пацієнток; ІІa, ІІb, ІІc стадії діагностовано у 14 (26,6%), ІІІ і ІІІа стадії - в 5 (10,1%) випадках. Для морфологічної характеристики прикордонних пухлин використовувалася «Міжнародна гістологічна класифікація пухлин жіночої статеві сфери ВООЗ 2013 г.».

В ході оперативного втручання проводилося видалення злоякісних утворень з наступним біохімічним дослідженням зразків тканини пухлини. У 10% цитозольних фракціях тканин, що були приготовані на калій-фосфатному буфері рН 7,4, що містить 0,1% Твін-20, визначали рівень ростових факторів - sVEGF-A (BenderMedSystem, Австрія) методом ІФА з використанням стандартних тест-систем, відповідно до інструкції виробника.

ІГХ дослідження матеріалу проводили на серійних парафінових зрізах за стандартною методикою з використанням мишачих моноклональних антитіл до р53 (клон D0-7. Розведення 1: 100. "Dako"). Демаскування антигенів здійснювали при 98°C на водяній бані протягом 40 хв .. застосовуючи цитратний буфер (рН 6.0). В якості детекційної системи використовували Ventana Medical Systems, Inc.. Проводили позитивні і негативні контрольні реакції.

Для оцінки ядерної експресії р53 використовували індекс мітки (ІМ), вираховуючи відсоток позитивно забарвлених пухлинних клітин від загальної кількості в зонах з найбільшим їх вмістом (позитивно вважали реакцію при коричневому забарвленні більше 10% ядер пухлинних клітин). Для оцінки кількості і ступеня фарбування клітин використовували програми WCIF ImageJ і Aperio Image Scope.

Збір матеріалу проводився за згодою хворих і протоколювався згідно стандарту етичного комітету, який розроблено відповідно до Гельсінської декларації, Всесвітньої асоціації «Етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини» з поправками 2000р. Всі особи, які брали участь в дослідженні, дали письмову інформовану згоду на участь.

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою програми Statistica 6.0. Статистичну об-

робку отриманих результатів проводили за допомогою пакета програм Microsoft Excel (Windows XP). Дані таблиць представлені у вигляді  $M \pm m$ . Відмінності оцінювали по t-критерієм Стюдента і вважали достовірними при  $p < 0,05$ .

### Результати та їх обговорення

Результати морфологічних досліджень РЯ показали, що в нашому дослідженні переважали хворі з серозним раком - 78,5%. Другим за частотою було діагностовано недиференційований РЯ. Найменш часто спостерігався світлоклітинний (1,9%), а муцинозний і ендометріодний РЯ займав проміжне положення. Отже, на частку прогностично несприятливих гістологічних форм РЯ, до яких відносять серозний, світло-

клітинний і недиференційований раки, довелося 89,5% з усіх аналізованих нами випадків (таблиця 1).

Результати морфологічних досліджень групи ППЯ встановили, що і в даному випадку переважали хворі з муцинозною гістоструктурою пухлин - 40%. Другими за частотою було діагностовано ендометріодні пухлини - 30%. Найменш часто виявлялися світлоклітинні пухлини - 5%, серозні пухлини займали проміжне положення - 25%. Таким чином, на частку прогностично несприятливих гістологічних форм прикордонних пухлин, до яких відносять серозний, світлоклітинний і недиференційований раки, припало 30% з усіх аналізованих нами випадків.

Таблиця 1  
Розподіл хворих в залежності від гістологічної структури пухлини

Гістологічна структура пухлини	РЯ		ППЯ		ДПЯ	
	Кількість хворих		Кількість хворих		Кількість хворих	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Серозні пухлини	205	78,5	10	25	78	78
Муцинозні пухлини	15	5,7	16	40	7	7,0
Ендометріодні пухлини	12	4,5	12	30	5	5
Світло-клітинні пухлини	5	1,9	2	5	3	3
Недиференційовані пухлини	24	9,1	-	-	7	7,0
Всього	261	100,0	40	100,0	100	100,0

Результати морфологічних досліджень ДПЯ показали, що в даному випадку переважали хворі з серозними пухлинами - 78%. Другим за частотою було діагностовано недиференційовані (7%) і муцинозні (7%) пухлини яєчників. Найменш часто спостерігався світло-клітинний (3%), а ендометріодні пухлини займали проміжне положення (5%).

Таким чином, на частку прогностично несприятливих гістологічних форм РЯ, до яких відносять серозний, світло-клітинний і недиференційований раки, довелося 89,5% з усіх аналізованих нами випадків.

На другому етапі нашого дослідження ми провели порівняльний аналіз концентрації p53 в сироватці крові і тканині пацієнток досліджуваних груп та показали існування достовірних відмінностей (табл. 2).

Таблиця 2  
Активність білка p53 у обстежуваних пацієнтів

Показники	РЯ (N=46)	ПОЯ (N=30)	ДОЯ (N=25)	Достовірність, p
p53 у крові	9,4±1,1	5,3±1,2	2,4±0,7	<0,05
p53 в тканині	4,1±1,0	2,6±0,5	1,5±0,8	<0,05

У групі пацієнток груп ППЯ і ДПЯ як загальна, так і місцева активність білка p53 була достовірно  $p < 0,05$ , вище ніж в групі порівняння. При цьому відзначалася позитивна кореляція між активністю білка p53 в сироватці крові і тканині яєчників. На нашу думку, підвищення активності білка p53 ймовірно пов'язано з числом індукторів, що активують нормальний p53, а так само різними способами ушкодження ДНК, що викли-

кають зміни пулу рибонуклеотидів, модифікацію редокс-потенціалу (наприклад накопичення атомів активного кисню в клітині, руйнування веретена поділу та ін). Різні механізми впливу не тільки різними способами активують p53, але і ця активація здійснюється через різні сигнальні шляхи. Ці, а можливо, і інші особливості регуляції гену/білка p53 визначають істотні відмінності відповіді різних пухлинних клітин на одні і ті ж дії і розбіжності в результатах впливу на p53 одних і тих же клітинних агентів, що їх ушкоджують.

Рецептор епідермального фактора росту 2 (epidermal growth factor receptor, EGFR-2 - HER-2 / neu) і фактор росту ендотелію судин (vascular endothelial growth factor - VEGF) відіграють особливу роль в механізмах ауто- і паракринної регуляції репродуктивної системи, перш за все – оваріальної функції. Ангіогенез в менструальному циклі знаходиться під контролем багатьох ростових факторів, в тому числі і HER-2 / neu [10, 12]. Багато вчених в своїх роботах відзначили, що висока експресія HER-2 / neu і VEGF в пухлинних клітинах яєчника є факторами агресивного перебігу і несприятливого прогнозу захворювання [12-16].

Так в результаті нашого дослідження розподіл показників сироваткового VEGF A у пацієнток основної та контрольної груп відрізнявся від нормального, тому в якості центральної характеристики застосовували медіану, а порівняльний і кореляційний аналіз проводили за допомогою непараметричних критеріїв. Значення показників VEGF A в сироватці крові хворих на рак яєчників у жінок з контрольної групи представлені в таблиці 3.

Таблиця 3  
Показники VEGF A в сироватці крові хворих з раком яєчників

VEGF A, пг/мл	Досліджувані групи	
	Рак яєчників	Умовно-здорові
n	46	20
Медіана	340,00	235,00
Квартилі	108,77 – 650,00	160,00 – 390,00
Межі	10,00 – 3400,00	100,00 – 560,00

Для аналізу відмінностей показників VEGF A в основній і контрольній групах застосовувався критерій Манна-Уїтні. Показники VEGF A в сироватці крові у

хворих на РЯ були вище, ніж у контрольній групі, відмінності в двох групах були статистично значущі,  $p=0,03$  (рисунк 1).

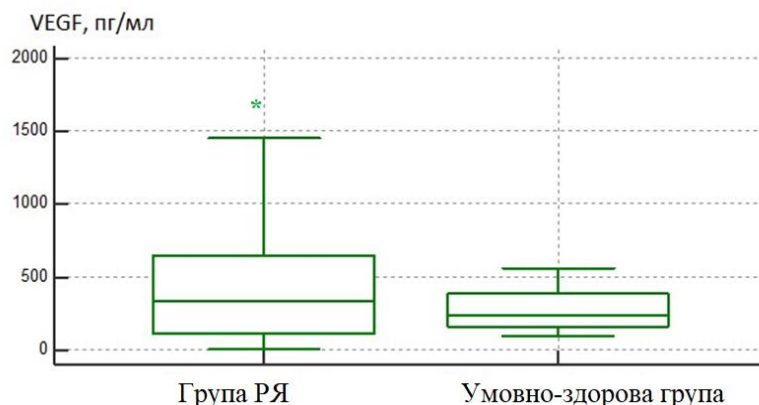


Рисунок 1. Показники VEGF A в сироватці крові хворих РЯ та умовно-здорової групи.

Значення VEGF A в групі хворих РЯ знаходився в межах від 29,94 пг/мл до 2240,01 пг/мл. За критерієм типу Колмогорова-Смірнова даний показник був не-параметричним,  $p = 0,0022$ . Медіана показника VEGF A склала 325,77 пг/мл, межквартильний інтервал 109,10 - 504,29 пг/мл.

Був проведений кореляційний аналіз показників сироваткового VEGF A з віком хворих РЯ, стадією захворювання, гістологічним підтипом і ступенем диференціювання пухлини. Результати представлені в таблиці 4.

Показники сироваткового VEGF A статистично значимо корелювали зі стадією захворювання: коефіцієнт рангової кореляції Спірмена  $\rho = 0,30$ ; 95% ДІ = 0,02 - 0,536,  $p < 0,05$ . Кореляції з віком пацієнтів, гістологічним підтипом і ступенем диференціювання пухлини отримано не було.

Таблиця 4  
Результати кореляційного аналізу між значеннями сироваткового VEGF A і віком, стадією захворювання, гістологічним підтипом і ступенем диференціювання пухлини у хворих на рак яєчників

Клінічні характеристики	Коефіцієнт кореляції Спірмена, $\rho$	95 %, довірчий інтервал, ДІ	Рівень значущості, $p$
Вік	0,20	-0,03-0,41	$>0,05$
Стадія	0,30	0,02-0,54	$<0,05$
Гістологічний підтип пухлини	0,22	-0,07-0,47	$>0,05$
Ступінь диференціювання пухлини	-0,07	-0,41-0,29	$>0,05$

Для визначення чутливості і специфічності VEGF A для діагностики РЯ був проведений ROC-аналіз (рисунк 2).

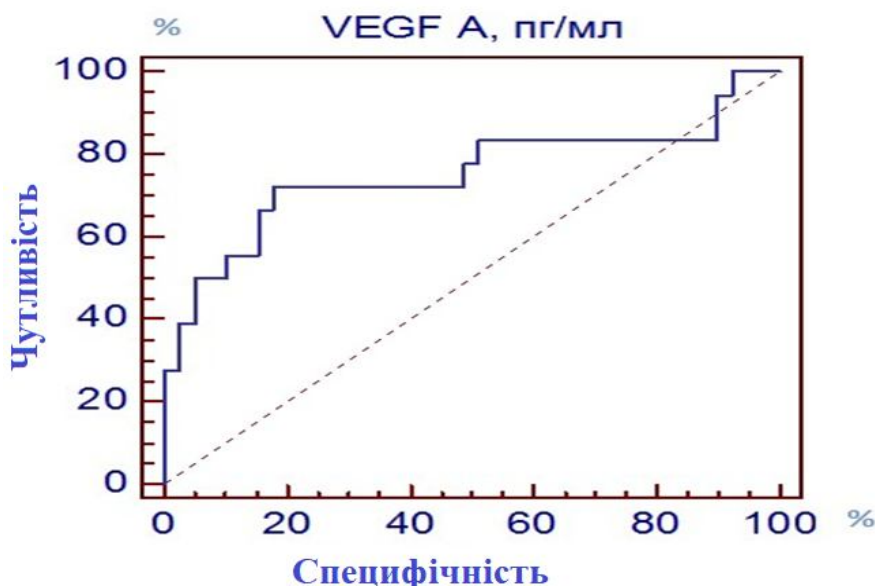


Рисунок 2. Результати ROC-аналізу чутливість та специфічність VEGF A для діагностування РЯ.

За даними ROC-аналізу було встановлено, що VEGF A має чутливість 72,2%, специфічність 82,1% для діагностики РЯ, при значеннях вище 428,84 нг/мл.

Результати ROC-аналізу були статистично значущими,  $p = 0,0026$ .

При цьому площа поверхні під кривою (AUC), дорівнювала 0,8, що свідчить про хорошу інформативність методу.

Нами була виявлена статистично значуща кореляція між стадією захворювання і рівнем сироваткового VEGF A, коефіцієнт кореляції Спірмена ( $\rho$ ) склав 0,32; 95% ДІ = 0,09 - 0,52,  $p = 0,006$ . Кореляції з віком пацієнток, гістологічним підтипом і ступенем дифере-

нціювання пухлини отримано не було. Показники VEGF A при різних стадіях представлені в таблиці 5. Невеликі значення показників VEGF A у пацієнток з II стадією раку яєчників, найімовірніше, обумовлені невеликою кількістю пацієнток з даною стадією в нашому дослідженні

Таблиця 5  
Показники VEGF A у хворих РЯ в залежності від стадії захворювання.

VEGF A, пг/мл	I стадія	II стадія	III стадія	IV стадія
N	26	8	73	14
медіана	240,93	119,82	358,65	687,93
квартілі	130,37 - 416,94	95,62 - 150,22	194,59 - 622,96	458,15 - 1398,26
межі	80,78 - 851,15	29,94 - 280,30	40,85 - 2240,01	135,59 - 2000,00

В результаті дослідження нами було виявлено статистично значуща кореляція між показником сироваткового VEGF A в групі хворих РЯ III стадії, коефіцієнт кореляції Спірмена ( $\rho$ ) склав 0,41; 95% ДІ = 0,20 - 0,61,  $p < 0,05$ .

**Висновки.** З огляду на отриманні результати нашого дослідження, можна зробити висновок, що критеріально-важливими показниками РЯ є сироваткові рівні p53 та показники сироваткового VEGF A, підтвердженням чого є результати ROC-аналізу  $p = 0,0026$ , що свідчить про хорошу інформативність методу.

#### Література

1. The writing committee on behalf of the ASTEC study group // Lancet.2009;. 373:125–136.
2. Рак в Україні, 2015–2016. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби; уклад.: З. П. Федоренко, Л. О. Гулак, Ю. Й. Михайлович [та ін.] // Бюл. Нац. канцер-реєстру України. К., 2016;18: 123 с.
3. FIGO committee on Gynaecologic Oncology // Int. J. Gynaecol. Obstet.2009;105:103–104.
4. Барышников А. Ю. Програмируемая клеточная смерть (апоптоз) / А. Ю. Барышников, Ю. В. Шишкин // Рос. онкол. журн.1996;1:58–61.
5. Копнин Б. П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены / Б. П. Копнин // Канцерогенез; под ред. Д. Г. Заридзе. М.: Научный мир, 2000:75–91.
6. Levine A. J. The p53 tumor suppressor gene / A. J. Levine, J. Momandand, C. A. Finley // Nature.1991;351:453–456.
7. Копнин Б. П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза / Б. П. Копнин // Биохимия. 2000; 65(1):5–33.
8. Spontaneous apoptosis in ovarian carcinomas a positive association with p53 gene mutation is dependent on growth traction / J. Kupryjanezyk, A. Dansonka Mieszkowska, T. Szymanska [et al.] // Dr. J. Cancer (Scotland).2000;82:579–583.
9. p53 overexpression is associated with cytoreduction and response to chemotherapy in ovarian cancer / G. Ferrandina, A. Fagotti, M. Salerno [et al.] // Br. J. Cancer.1999;81:733–740.
10. p53 overexpression is Not an independent prognostic factor for patients with primary ovarian epithelial cancer / G. Eltabbakh, J. Belison, A. Kennedy [et al.] // Cancer.1997; 80(5):892–898.
11. p53 in epithelial ovarian carcinoma: their value as prognostic indicator at median follow-up of 60 months / J. Geisler, H. Geisler, G. Miller [et al.] // Gynecol. Oncol.2000;77(2):278–282.
12. Theophylline and cisplatin synergize in down regulation of bcl-2 induction of apoptosis in human granulosa cells / Y. Yoshida, K. Hosokawa, A. Dantes [et al.] // Int. J. Oncol. 2000;17(2):227–235.
13. Garzetti G. Vascular endothelial growth factor expression as a prognostic index in serous ovarian cystadenocarcinomas: relationship with MIB 1 Immunostaining / G. Garzetti, A. Ciavattini, G. Lucarni // Gynecol. Oncol.1999;73 (3):396–401.
14. Clinical implications of expression of vascular endothelial growth factor in metastatic lesions cancers / J. Fujimoto, H. Sakaguchi, I. Aoki [et al.] // Br. J. Cancer.2001;85(3): 313–316.
15. Михановский А. А. Анализ эффективности комбинированного лечения с неoadъювантной химиотерапией у больных раком яичников / А. А. Михановский, Е. Н. Сухина // Междунар. мед. журн.2014;20(2): 80–87.
16. Карташов С. М. Епідеміологія та діагностика раку яєчників: метод. рек. / С. М. Карташов, О. О. Акуліна, Т. В. Скрицька.К., 2008:25 с.

Матеріал надійшов до редакції 12.05.2020