

© Коллектив авторов, 2023

УДК 616-092+575:599

Лукина С.С.¹, Пронина И.В.¹, Бурденный А.М.^{1,2}, Филиппова Е.А.¹, Казубская Т.П.³, Кушлинский Н.Е.³, Брага Э.А.^{1,4}, Логинов В.И.^{1,4}

Аберрантная экспрессия группы длинных некодирующих РНК при раке яичников

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, Россия, Балтийская ул., д. 8;²ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН, 119334, Москва, Россия, ул. Косыгина, д. 4;³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Россия, Каширское шоссе, д. 23;⁴ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова», 115522, Москва, Россия, ул. Москворечье, д. 1

Актуальность. Рак яичников (РЯ) представляет собой группу агрессивных гетерогенных злокачественных опухолей, характеризующихся быстрой прогрессией, низким диагностическим потенциалом, высокой частотой неблагоприятных исходов и высоким потенциалом метастазирования. В последнее время все большую актуальность приобретают исследования длинных некодирующих РНК (днРНК, lncRNAs), которые не обладают способностью кодировать белки. Для днРНК характерна высокая тканеспецифичность экспрессии, они участвуют в регуляции различных сигнальных путей в клетках, демонстрируя большой прогностический потенциал при онкозаболеваниях.

Цель исследования – выявление аберрантно экспрессируемых длинных некодирующих РНК в образцах опухолей больших РЯ и связи уровней экспрессии с патофизиологическими характеристиками опухолей.

Методика. Образцы опухолей РЯ собраны и клинически охарактеризованы в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». Высокомолекулярную РНК выделяли из ткани стандартным методом. Анализ уровня экспрессии днРНК HOTAIR, MALAT1 и TINCR проводился с использованием ПЦП в реальном времени готовой реакционной смесью qPCRmix-HS SYBR («Евроген»). Статистический анализ уровней экспрессии выполнен в программной среде R с применением непараметрического U теста Манна–Уитни. Корреляционный анализ выполняли с использованием метода ранговой корреляции Спирмена и рассчитывали уровень его значимости. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$. Дополнительно были проанализированы данные по экспрессии днРНК при РЯ по базе данных GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/>).

Результаты. Анализ уровня экспрессии днРНК показал значимое ($p \leq 0.05$) снижение уровня экспрессии днРНК HOTAIR, MALAT1. При анализе образцов с учётом патофизиологических характеристик опухоли было показано, что снижение уровня экспрессии HOTAIR ассоциировано с III/IV стадией опухолевого процесса. Для днРНК MALAT1 и TINCR показана значимая корреляция низкого уровня экспрессии с развитием эндометриоидного подтипа РЯ.

Заключение. Представленные данные способствуют более глубокому пониманию механизмов развития РЯ и могут быть использованы при диагностике, прогнозе и выборе тактики лечения данной патологии.

Ключевые слова: длинные некодирующие РНК; экспрессия; рак яичников

Для цитирования: Лукина С.С., Пронина И.В., Бурденный А.М., Филиппова Е.А., Казубская Т.П., Кушлинский Н.Е., Брага Э.А., Логинов В.И. Аберрантная экспрессия группы длинных некодирующих РНК при раке яичников. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2023; 67(2): 26-32.

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.02.26-32

Участие авторов: Лукина С.С., Пронина И.В. – ответственные за экспериментальные данные; Бурденный А.М. – концепция и структура статьи; Лукина С.С., Филиппова Е.А., – статистическая обработка полученных данных; Логинов В.И. – биоинформационный, подготовка иллюстративного материала; Казубская Т.П., Кушлинский Н.Е. – сбор клинических образцов; Брага Э.А. – организация работы в рамках гранта РФФ №20-15-00368, редактирование статьи. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Бурденный Алексей Михайлович, e-mail: burdennyu@gmail.com, Лукина Светлана Сергеевна, e-mail: sveta_sergeevna349@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена при поддержке РФФ (грант № 20-15-00368).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Авторы благодарят сотрудников ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» за сбор и клинико-гистологическую характеристику образцов РЯ.

Поступила 16.05.2023

Принята к печати 18.05.2023

Опубликована 27.06.2023

Lukina S.S.¹, Pronina I.V.¹, Burdenny A.M.^{1,2}, Filippova E.A.¹, Kazubskaya T.P.³, Kushlinskii N.E.³, Braga E.A.^{1,4}, Loginov V.I.^{1,4}

Aberrant expression of a long non-coding RNAs group in ovarian cancer

¹Institute of General Pathology and Pathophysiology,
Baltiyskaya st. 8, Moscow 125315, Russian Federation;

²Emanuel Institute for Biochemical Physics,
Kosygina st., 3, Moscow, 119334, Russian Federation;

³Blokhin National Medical Research Center of Oncology,
Kashirskoe sh. 23, Moscow, 115478, Russian Federation;

⁴Bochkov Research Centre for Medical Genetics,
Moskvoreche st. 1, Moscow, 115522, Russian Federation

Background. Ovarian cancer (OC) is a group of aggressive heterogeneous malignant tumors characterized by rapid progression, low diagnostic potential, high incidence of adverse outcomes, and high potential for metastasis. Recently, studies of long non-coding RNAs (lncRNAs), which, with rare exceptions, do not have the ability to encode proteins, have become increasingly important. lncRNAs are characterized by high tissue-specific expression and they are involved in the regulation of various signaling pathways in cells and demonstrate a great prognostic potential in cancer. **Aim.** Detection of aberrantly expressed long non-coding RNAs in tumor samples from OC patients and association of expression levels with pathophysiological characteristics of tumors.

Methods. Samples of OC tumors were collected and clinically characterized at the N.N. Blokhin Research Institute of Clinical Oncology. High molecular weight RNA was isolated from tissue by a standard method. Analysis of the expression levels of HOTAIR, MALAT1, and TINCR lncRNA was carried out using real-time PCR and a qPCRmix-HS SYBR ready-made reaction mixture (Evrogen). Statistical analysis of expression levels was performed in the R software environment using the nonparametric Mann-Whitney U test. Correlation analysis was performed using Spearman's rank correlation, and its significance level was calculated. Differences were considered significant at $p < 0.05$. Additionally, expression levels of these lncRNAs in OC were analyzed using the GEPIA database (<http://gepia.cancer-pku.cn/>).

Results. The expression levels of the HOTAIR and MALAT1 lncRNA genes were significantly decreased ($p \leq 0.05$). Analysis of the samples with the account of the tumor pathophysiological characteristics showed that the decrease in the level of HOTAIR expression was associated with stage III/IV of the tumor process. For MALAT1 and TINCR lncRNAs, low expression levels significantly correlated with the development of the endometrioid subtype of OC.

Conclusion. The results of the study allow a better insight into the mechanisms of OC development and can be used for diagnosis, prognosis and selection of therapeutic tactics in this pathology.

Keywords: long non-coding RNA; expression; ovarian cancer

For citation: Lukina S.S., Pronina I.V., Burdenny A.M., Filippova E.A., Kazubskaya T.P., Kushlinskii N.E., Braga E.A., Loginov V.I. Aberrant expression of a long non-coding RNAs group in ovarian cancer. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2023; 67(2): 26-32. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.02.26-32

Author's contribution: Lukina S.S., Pronina I.V. – processing of material, conducting research; Burdenny A.M. – concept and design of research; Lukina S.S., Filippova E.A. – statistical processing of the result; Loginov V.I. – bioinformatical analysis and preparation of illustrative material; Kazubskaya T.P., Kushlinskii N.E. – collection and the description of the material, Braga E.A. – general guidance of the study in frame of RSF grant №20-15-00368, editing of the article. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: Alexey Mikhailovich Burdenny, e-mail: burdenny@gmail.com; Svetlana Sergeevna Lukina, e-mail: sveta_sergeevna349@mail.ru

Information about the authors:

Lukina S.S., <https://orcid.org/0000-0001-6246-2444>

Pronina I.V., <https://orcid.org/0000-0002-0423-7801>

Burdenny A.M., <https://orcid.org/0000-0002-9398-8075>

Filippova E.A., <https://orcid.org/0000-0001-7172-0433>

Kazubskaya T.P., <https://orcid.org/0000-0001-5856-0017>

Kushlinskii N.E., <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>

Braga E.A., <https://orcid.org/0000-0001-5188-4094>

Loginov V.I., <https://orcid.org/0000-0003-2668-8096>

Financing. This work was supported by the Russian Science Foundation (grant no. 20-15-00368).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The authors thank the staff of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology for collecting and clinical and histological characterization of OC samples.

Received 16.05.2023

Accepted 18.05.2023

Published 27.06.2023

Введение

Злокачественные виды опухолей у женщин, включая рак молочной железы, яичников, матки, влагалища, шейки матки и вульвы, относятся к числу основных угроз современной жизни. Рак яичников (РЯ) представляет собой группу агрессивных гетерогенных злокачественных опухолей эпителиального генеза [1]. Симптомы РЯ могут быть неспецифическими (вздутие живота, боли в области таза, боли в спине, потеря веса и изменения в работе кишечника) и часто не проявляются до тех пор, пока рак не прогрессирует [2]. По последним данным было выявлено более 300 тыс новых случаев заболевания РЯ в мире, и по статистике он занимает 1-е место по смертности среди онкогинекологических заболеваний [3]. Факторами риска развития РЯ являются генетические факторы, этническое происхождение, ранний возраст менархе, позднее наступление менопаузы, общее количество менструальных циклов, отсутствие беременности или низкий паритет, отсутствие грудного вскармливания, отсутствие адекватной физической нагрузки и сбалансированной диеты [4–7]. Современными клиническими методами лечения больных РЯ в основном является комбинация хирургического вмешательства наряду с химиотерапией [8].

Одна из причин, по которой РЯ так трудно поддается лечению, заключается в его сложной биологии. Развитие и прогрессирование РЯ связано с сочетанием генетических и эпигенетических изменений. Генетические мутации, такие как мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2*, связаны с повышенным риском развития РЯ [9]. К эпигенетическим механизмам относятся модификации ДНК и гистонов, которые могут влиять на экспрессию генов, а также воздействие длинных некодирующих РНК (днРНК) [10].

днРНК – это молекулы РНК, которые не кодируют белки, и длина которых превышает 200 нуклеотидов [11]. Они участвуют в различных функциях в клетке, включая дозовую компенсацию, импринтинг, перестройку хроматина, модификацию гистонов, модификацию генов альтернативного сплайсинга, а также экспрессию генов [12]. Эти молекулы могут взаимодействовать с ДНК, мРНК, микроРНК, РНК-связывающими белками, и могут функционировать как в ядре, так и в цитоплазме [13]. днРНК могут действовать как молекулярные каркасы, объединяя множество белков и других РНК для образования функциональных комплексов, которые регулируют экспрессию генов. Они также могут действовать как приманки, связываясь с белками или молекулами РНК и мешая им выполнять свои нормальные функции. В некоторых случа-

ях днРНК могут даже выступать в качестве проводников, направляя белки в определенные области генома. При этом, разные днРНК могут выполнять функции как генов-супрессоров опухолей, так и онкогенов [10].

Аберрантная экспрессия днРНК наблюдалась при многих различных типах рака, в том числе и при РЯ, и было показано, что нарушение регуляции днРНК способствует развитию и прогрессированию рака [10]. Так, было показано, что днРНК *HOTAIR* способствует пролиферации раковых клеток путем подавления экспрессии генов-супрессоров опухоли [14], а экспрессия днРНК *TINCR* снижена при раке молочной железы, и ее гиперэкспрессия может подавлять рост и инвазию опухоли. Это указывает на его функцию супрессора опухоли [15]. Однако точные механизмы, с помощью которых днРНК *TINCR* вносит вклад в патогенез рака, еще до конца не изучены. Имеются единичные исследования показывающие, что эта днРНК может взаимодействовать с микроРНК, другими днРНК, факторами транскрипции и эпигенетическими регуляторами. [16]. Следует отметить, что результатов по экспрессии днРНК *TINCR* при РЯ в литературе не выявлено (PubMed, 28.03.2023, запрос: «*tin-cr ovarian cancer*»).

Цель работы – исследование экспрессии трех днРНК, выявление новых аберрантно экспрессируемых днРНК в злокачественных опухолях больных РЯ и их связи с патоморфологическими характеристиками опухолей.

Методика

Для анализа уровня экспрессии генов днРНК использовали 106 парных образцов опухолевой и условно нормальной ткани яичника от больных РЯ, проходивших обследование и лечение в НИИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Все опухоли были классифицированы в соответствии с TNM-классификацией Международного противоракового союза и гистологически верифицированы на основании критериев классификации ВОЗ [17]. Диагноз поставлен на основании гистологического заключения. Клинические данные больных приведены в **таблице**.

Для исследования брали образцы тканей РЯ больных, которые до операции не получали лучевую, химио- или гормонотерапию. Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации [18]. Для отбора образцов с высоким содержанием опухолевых клеток (не менее 70%) проводили дополнительный гистологический анализ микросрезов (3–5 мкм), окрашенных гематоксилином и эозином. Образцы тканей хранили

при -70°C . Замороженную в жидком азоте ткань измельчали с помощью гомогенизатора-диспергатора T10 basic ULTRA-TURRAX (IKA, Китай).

Высокомолекулярную РНК из парных образцов тканей РЯ (опухоль/прилежащая гистологически нормальная ткань яичников) выделяли с помощью реагента ExtractRNA #BC032 (Евроген, Россия). Качество и концентрацию РНК определяли по оптической плотности на спектрофотометре NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, США). Перед использованием все образцы РНК обрабатывали ДНКазой, свободной от РНКазы. Обратную транскрипцию тотальной РНК проводили с помощью набора реактивов MMLV RT kit # SK021 (Евроген, Россия) и ПЦР-РВ проводили на амплификаторе Bio-Rad CFX96 с помощью готовых наборов qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия). Последовательности олигонуклеотидов и условия проведения ПЦР для днРНК HOTAIR, MALAT1, TINCR и референсного гена *B2M*. Данные анализировали с использованием относительной количественной оценки по методу $\Delta\Delta\text{Ct}$. Изменения уровня днРНК менее чем в 2 раза ($|\Delta\Delta\text{Ct}| \leq 2$) рассматривали как отсутствие изменений. Проводили 3 повторных ПЦР-анализа.

Статистический анализ уровней экспрессии выполнен в программной среде R. Для оценки значимости различий между исследуемыми группами применяли непараметрический U тест Манна–Уитни для независимых выборок. Различия считали значимыми при $p < 0.05$. Данные выражали в виде медианы (Me), нижнего (Q1) и верхнего (Q3) квартилей. Корреляционный анализ выполняли с использованием метода ранговой корреляции Спирмена и рассчитывали уровень его значимости. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0.05$.

Дополнительно были проанализированы данные об экспрессии этих днРНК при РЯ по базе данных GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/>).

Результаты и обсуждение

С использованием представительной выборки образцов РЯ (106 пар опухоль/норма) было изучено изменение уровня экспрессии 3 днРНК – HOTAIR, MALAT1, TINCR. Для днРНК HOTAIR, MALAT1 показано статистически значимое ($p < 0,0001$) снижение уровня их экспрессии (рис. 1, А). Для подтверждения полученного результата, нами был проведен биоинформатический анализ изменения уровня их экспрессии по базе данных GEPIA 2.0. В результате мы обнаружили, что уровень экспрессии HOTAIR, MALAT1, TINCR на выборке образцов РЯ (426 образцов опухолевой ткани и 88 образцов нормальной ткани) снижен

в образцах опухолевой ткани по сравнению с образцами нормы (рис. 1, Б).

Настоящая работа была направлена на поиск новых аберрантно экспрессируемых днРНК при РЯ с целью выявления закономерностей образования и прогрессии данного вида опухоли.

По результатам исследования, при РЯ было показано статистически значимое снижение уровня экспрессии днРНК HOTAIR, MALAT1 в образцах опухоли по сравнению с парной гистологически нормальной тканью яичников, что подтвердилось в ходе биоинформатического анализа экспрессии этих днРНК (согласно базе данных GEPIA 2.0).

На втором этапе исследования анализировали изменение уровня экспрессии для 3 днРНК в образцах первичных опухолей РЯ с учетом их патоморфологических особенностей (стадии опухолевого процесса,

Клинико-патоморфологические параметры больных. (может быть параметры опухоли у больных?)

Clinical and pathomorphological parameters of patients.

Клинико-гистологический параметр Clinical and histological parameters	Количество образцов Number of samples	
Гистологический тип рака Histological type of cancer	Серозная карцинома Serous carcinoma	65
	Эндометриоидная карцинома Endometrioid carcinoma	7
	Редкие формы рака Rare forms of cancer	34
Стадия опухолевого процесса Stage of the tumour process	Ранние стадии (I + II) Early stages (I + II)	50
	Поздние стадии (III + IV) Late stages (III + IV)	56
Степень дифференцировки Degree of differentiation	G1	17
	G2	17
	G3	32
	Нет	40
Размер первичной опухоли Size of primary tumour	T1	39
	T2	14
	T3	53
	T4	0
Лимфогенное метастазирование Lymphogenic metastasis	Есть Yes	30
	Нет No	76

размера опухоли, наличия или отсутствия лимфогенного метастазирования, степени дифференцировки, гистологического типа опухоли). Статистически значимых изменений уровня экспрессии днРНК HOTAIR, MALAT1 и TINCR в зависимости от размера опухоли, лимфогенного метастазирования и степени дифференцировки выявлено не было.

Нами показано дополнительное снижение уровня экспрессии днРНК HOTAIR (рис. 2, А) в образцах с тя-

желой (III-IV) стадией опухолевого процесса по сравнению с начальными стадиями на уровне тенденции ($p = 0.08$). Для MALAT1 и TINCR значимых изменений уровней экспрессии в образцах с тяжелой стадией опухоли не обнаружено.

Показано также изменение уровня экспрессии днРНК MALAT1 и TINCR (рис. 2, Б) в зависимости от гистологического типа опухоли. Так уровень экспрессии для днРНК TINCR значимо снижался при

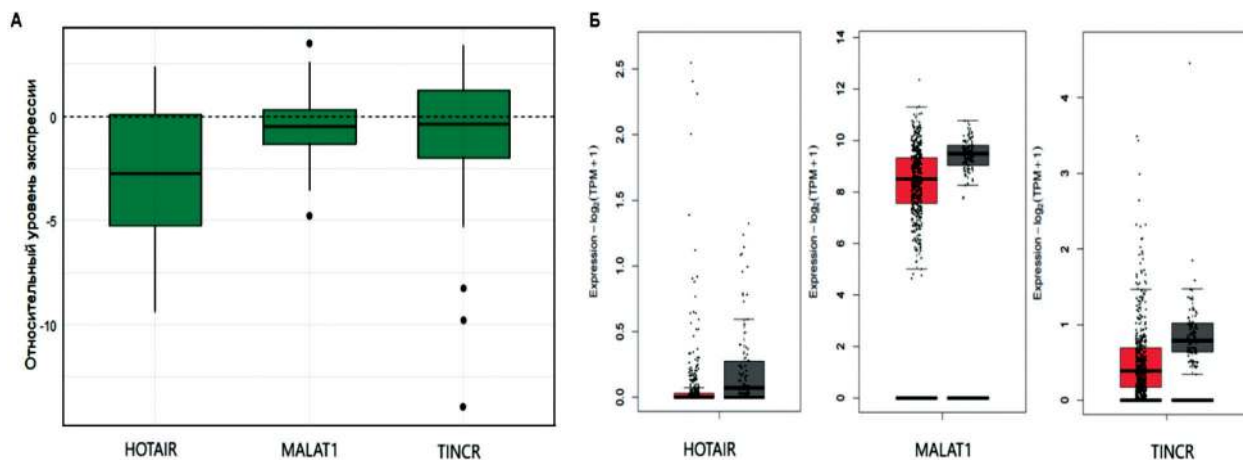


Рис. 1. Изменение уровня экспрессии днРНК HOTAIR, MALAT1, TINCR при РЯ. А – при анализе 106 парных образцов (порядок – во сколько раз); Б – согласно базе данных GEPIA 2.0; красный бокс-плот – опухолевые образцы, серый – нормальная ткань; ось ординат – уровень экспрессии $\log_2(\text{TPM}+1)$, где TPM – Transcript Count Per Million (количество транскриптов на миллион).

Fig. 1. Changes in expression levels of HOTAIR, MALAT1, TINCR dnRNA in RRNA. А – in analysis of 106 paired samples (order by how many times); B – according to GEPIA 2.0 database; red boxplot – tumour samples, grey – normal tissue; ordinate axis – expression level $\log_2(\text{TPM}+1)$, where TPM is Transcript Count Per Million.

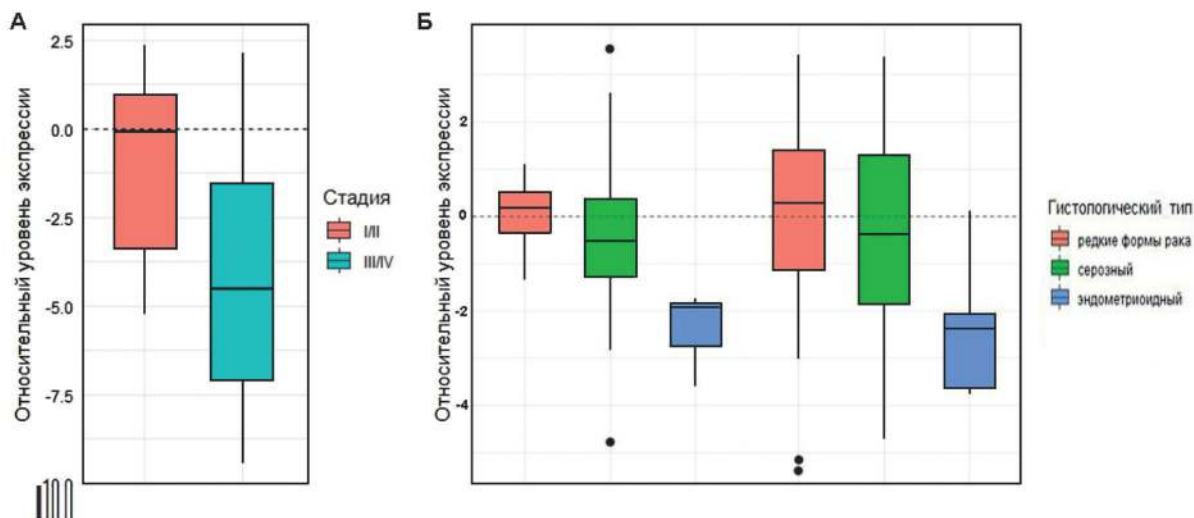


Рис. 2. Изменения уровня экспрессии днРНК HOTAIR, MALAT1 и TINCR в зависимости от: А – стадии онкологического процесса; Б – гистологического типа опухоли.

Fig. 2. Changes in dnRNA expression levels of HOTAIR, MALAT1 and TINCR depending on: А – stage of the cancer process; B – histological type of tumour.

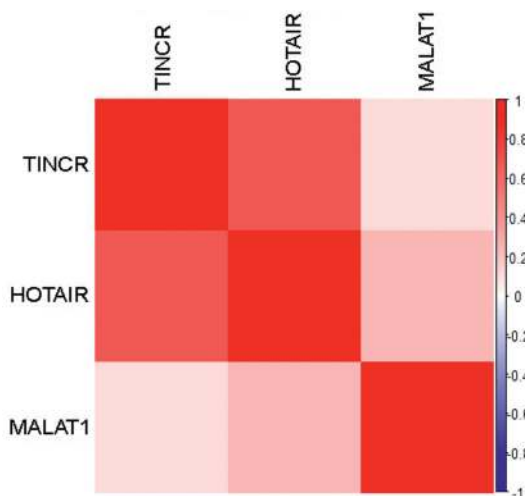


Рис. 3. Анализ ко-экспрессии (синие квадраты — отрицательная корреляция, красные квадраты — положительная корреляция, размер и яркость квадратов представляют степень корреляции).

Fig. 3. Co-expression analysis (blue squares represent negative correlation, red squares represent positive correlation, size and brightness of squares represent degree of correlation).

эндометриоидном типе опухоли относительно серозного типа ($p=0.002$) и при эндометриоидном типе относительно других редких форм опухоли ($p=0.002$). Для MALAT1 показано снижение уровня экспрессии на уровне тенденции ($p=0.07$) при эндометриоидном типе опухоли относительно серозного типа и относительно других редких форм опухоли. Для днРНК HOTAIR подобных закономерностей обнаружено не было.

Таким образом, сниженный уровень экспрессии HOTAIR на более тяжелых стадиях онкологического процесса, а также значимая корреляция низкого уровня экспрессии MALAT1 и TINCR с развитием эндометриоидного подтипа РЯ могут отражать связь данных днРНК с некоторыми клинико-гистологическими характеристиками опухолей и прогрессией заболевания.

При анализе ко-экспрессии 3 изученных днРНК методом корреляционного анализа по Спирмену была выявлена статистически значимо ко-экспрессируемая пара днРНК HOTAIR-TINCR ($r_s = 0.79$, $p = 0.001$). Полученные данные могут свидетельствовать о том, что обе днРНК могут участвовать в одном и том же процессе.

Результаты, полученные в нашей работе об изменении уровня экспрессии TINCR в эпителиальных опухолях яичников, согласуются с данными литературы, где схожие результаты были получены на других видах онкологии [15].

Статистически значимая ко-экспрессия днРНК HOTAIR-TINCR в опухолевых тканях РЯ указывает на

их возможное участие в одном и том же биологическом процессе, протекающем в опухолевой клетке, например, в эпителиально-мезенхимальном переходе [14].

Заключение

В итоге, нами показано значимое ($p<0,0001$) снижение уровня экспрессии днРНК HOTAIR и MALAT1 в опухолях яичников, связь уровня экспрессии HOTAIR с более тяжелыми стадиями рака, и связь уровня днРНК MALAT1 и TINCR с развитием эндометриоидного подтипа РЯ. Нами также установлена статистически значимая ко-экспрессия днРНК HOTAIR и TINCR, на основании которой можно предполагать их участие в общих процессах, вовлеченных в развитие метастазирования.

Полученные результаты способствуют расширению представлений о роли длинных некодирующих РНК в онкогенезе. В частности, выявляют важную роль снижения экспрессии этих днРНК в развитии и прогрессии РЯ.

Дальнейшие исследования механизмов регуляции этих днРНК и их взаимодействий с другими молекулами, участвующими в развитии рака, несомненно, прольют свет на сложную биологию рака яичников, а исследованные днРНК могут найти применение в разработке персонализированных подходов к диагностике, прогнозу и терапии больных РЯ.

Литература

(п.п. 1-9; 11-19 см.References)

10. Лукина С.С., Бурденный А.М., Филиппова Е.А., Пронина И.В., Иванова Н.А., Казубская Т.П. и др. Роль длинных некодирующих РНК и ДНК-метилирования в патогенезе рака яичников. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2022; 66(4): 143-56. DOI: 10.25557/0031-2991.2022.04.143-156
20. Пронина И.В., Филиппова Е.А., Бровкина О.И., Бурденный А.М., Казубская Т.П., Кушлинский Д.Н. и др. Группы длинных некодирующих РНК и микроРНК в регуляции уровня экспрессии ряда опухоль-ассоциированных генов при раке яичников. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2022; 174(9): 343-9. DOI 10.47056/0365-9615-2022-174-9

References

1. Testa U., Petrucci E., Pasquini L., Castelli G., Pelosi E. Ovarian Cancers: Genetic Abnormalities, Tumor Heterogeneity and Progression, Clonal Evolution and Cancer Stem Cells. *Medicines (Basel)*. 2018; 5(1): 16. doi: 10.3390/medicines5010016
2. Orr B, Edwards RP. Diagnosis and Treatment of Ovarian Cancer. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2018 Dec; 32(6): 943-64. doi: 10.1016/j.hoc.2018.07.010
3. *Global Cancer Observatory (WHO International Agency for Research on Cancer)*. <https://gco.iarc.fr/>

4. Norquist B.M., Harrell M.I., Brady M.F., Walsh T., Lee M.K., Gulsuner S., et al. Inherited mutations in women with ovarian carcinoma. *JAMA Oncol.* 2016; 2(4): 482–90. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.5495
5. Gong T.T., Wu Q.J., Vogtmann E., Lin B., Wang Y.L. Age at menarche and risk of ovarian cancer: a meta-analysis of epidemiological studies. *Int J Cancer.* 2013; 132(12):2894–2900. doi: 10.1002/ijc.27952
6. Luan N.N., Wu Q.J., Gong T.T., Vogtmann E., Wang Y.L., Lin B. Breastfeeding and ovarian cancer risk: a meta-analysis of epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr.* 2013; 98(4): 1020–31. doi: 10.3945/ajcn.113.062794
7. Ciebiera M., Esfandyari S., Sibli H., Prince L., Elkafas H., Wojtyła C., Al-Hendy A., Ali M. Nutrition in Gynecological Diseases: Current Perspectives. *Nutrients.* 2021; 13(4): 1178. doi: 10.3390/nu13041178
8. Debela D.T., Muzazu S.G., Heraro K.D., Ndalama M.T., Mesele B.W., Haile D.C., et al. New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives. *SAGE Open Med.* 2021; 9: 20503121211034366. doi: 10.1177/20503121211034366
9. Pallonen T.A., Lempiäinen S.M.M., Joutsiniemi T.K., Aaltonen R.I., Pohjola P.E., Kankuri-Tammilehto M.K. Genetic, clinic and histopathologic characterization of BRCA-associated hereditary breast and ovarian cancer in southwestern Finland. *Sci Rep.* 2022; 12(1): 6704. doi: 10.1038/s41598-022-10519-y
10. Lukina S.S., Burdenny A.M., Filippova E.A., Pronina I.V., Ivanova N.A., Kazubskaya T.P., Braga E.A., Loginov V.I. The role of long non-coding RNA and DNA methylation in the pathogenesis of ovarian cancer. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya.* 2022; 66(4): 143–56. (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2022.04.143-156
11. Wang Q., Liu J., You Z., Yin Y., Liu L., Kang Y., et al. LncRNA TINCR favors tumorigenesis via STAT3-TINCR-EGFR-feedback loop by recruiting DNMT1 and acting as a competing endogenous RNA in human breast cancer. *Cell Death Dis.* 2021; 12(1): 83. doi: 10.1038/s41419-020-03188-0
12. Statello L., Guo C.J., Chen L.L., Huarte M. Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2021; 22(2): 96–118. doi: 10.1038/s41580-020-00315-9
13. Braga E.A., Fridman M.V., Moscovtsev A.A., Filippova E.A., Dmitriev A.A., Kushlinskii N.E. LncRNAs in Ovarian Cancer Progression, Metastasis, and Main Pathways: ceRNA and Alternative Mechanisms. *Int J Mol Sci.* 2020 Nov 23; 21(22): 8855. doi: 10.3390/ijms21228855. PMID: 33238475; PMCID: PMC7700431
14. Zhu C., Wang X., Wang Y., Wang K. Functions and underlying mechanisms of lncRNA HOTAIR in cancer chemotherapy resistance. *Cell Death Discov.* 2022 Sep 13; 8(1): 383. doi: 10.1038/s41420-022-01174-3
15. Sharma U., Barwal T.S., Malhotra A., Pant N., Vivek., Dey D., et al. Long non-coding RNA TINCR as potential biomarker and therapeutic target for cancer. *Life Sci.* 2020; 257: 118035. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118035
16. Xu T.P., Wang Y.F., Xiong W.L., Ma P., Wang W.Y., Chen W.M., et al. E2F1 induces TINCR transcriptional activity and accelerates gastric cancer progression via activation of TINCR/STAU1/CDKN2B signaling axis. *Cell Death Dis.* 2017; 8(6): e2837. doi: 10.1038/cddis.2017.205
17. Brierley J.D., Gospodarowicz M.K., Wittekind C., ed. *TNM Classification of Malignant Tumours.* 8th ed. John Wiley & Sons; 2017.
18. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2013 Nov 27; 310(20): 2191–4. doi: 10.1001/jama.2013.281053
19. Pronina I.V., Uroshlev L.A., Moskovtsev A.A., Zaichenko D.M., Filippova E.A., Fridman M.V., Burdenny A.M., Loginov V.I., Kazubskaya T.P., Kushlinskii N.E., Dmitriev A.A., Braga E.A., Brovkina O.I. Dysregulation of LncRNA–miRNA–mRNA Interactome as a Marker of Metastatic Process in Ovarian Cancer. *Biomedicine.* 2022, 10, 824. DOI: 10.3390/biomedicine10040824
20. Pronina I.V., Filippova E.A., Brovkina O.I., Burdenny A.M., Kazubskaya T.P., Kushlinsky D.N., et al. Groups of long non-coding RNAs and microRNAs in the regulation of the expression level of a number of tumors-associated genes in ovarian cancer. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2022; 174(9): 343–9. DOI 10.47056/0365-9615-2022-174-9-343-349

Сведения об авторах:

Лукина Светлана Сергеевна, аспирант, лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП;

Пронина Ирина Валерьевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП;

Бурдённий Алексей Михайлович, канд. биол. наук, вед. науч. сотр., лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП;

Филиппова Елена Александровна, канд. биол. наук, науч. сотр., лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП;

Казубская Татьяна Павловна, доктор мед. наук, врач-онкогенетик, ст. науч. сотр., лаб. клинической онкогенетики ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;

Кушлинский Николай Евгеньевич, доктор мед. наук, проф., акад. РАН, зав. отделом клинической биохимии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;

Брага Элеонора Александровна, доктор биол. наук, проф., гл. науч. сотр., лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП;

Логинов Виталий Игоревич, канд. биол. наук, вед. науч. сотр., лаб. патогеномики и транскриптомики ФГБНУ НИИОПП.