

DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2025.171-188>
УДК: 616-006.6-08-053.31



Маркери прогнозу рецидиву раку грудної залози під час вагітності

Леп'ярчик М.⁴, <http://orcid.org/0000-0003-3650-086X>, e-mail: mlep@o2.pl
Іванова Ю.В.^{1,3}, <https://orcid.org/0000-0003-4464-3035>, e-mail: dr.ivanova23@gmail.com
Граматюк С.М.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0003-4238-7031>, e-mail: gramatyuk@ukrainebiobank.com
Козуб М.М.^{4,5}, <http://orcid.org/0000-0002-2420-3545>, e-mail: kozub061979@gmail.com
Криворучко І.А.³, <https://orcid.org/0000-0002-5525-701X>, e-mail: ikryvoruchko60@gmail.com
Харченко К.В.⁶, <https://orcid.org/0000-0002-9170-9431>, e-mail: k.kharchenko@ukr.net
Сарксян К.^{2,7}, <http://orcid.org/0000-0001-5853-4994>, e-mail: Karine.Sargsyan@cshs.org

¹Українська асоціація біобанків, Медичний університет Грац, Грац, Австрія

²Міжнародний біобанкінг та освіта, Медичний університет Граца, Грац, Австрія

³Харківський національний медичний університет
Міністерства охорони здоров'я України, Харків, Україна

⁴Госпіталь Святого Олександра, Кельце, Польща

⁵Навчально-науковий інститут післядипломної освіти

Харківського національного медичного університету
Міністерства охорони здоров'я України, Харків, Україна

⁶Комунальне некомерційне підприємство
«Київський міський клінічний онкологічний центр», Київ, Україна

⁷Єреванський державний медичний університет імені Мхітера Гераці,
Єреван, Вірменія

Markers of the prognosis of breast cancer relapse during pregnancy

Lepiarczyk M.⁴, <http://orcid.org/0000-0003-3650-086X>, e-mail: mlep@o2.pl
Ivanova Yu.V.^{1,4}, <https://orcid.org/0000-0003-4464-3035>, e-mail: dr.ivanova23@gmail.com
Gramatiuk S.M.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0003-4238-7031>, e-mail: gramatyuk@ukrainebiobank.com
Kozub M.M.^{4,5}, <http://orcid.org/0000-0002-2420-3545>, e-mail: kozub061979@gmail.com
Kryvoruchko I.A.³, <https://orcid.org/0000-0002-5525-701X>, e-mail: ikryvoruchko60@gmail.com
Kharchenko K.V.⁶, <https://orcid.org/0000-0002-9170-9431>, e-mail: k.kharchenko@ukr.net
Sargsyan K.^{2,7}, <http://orcid.org/0000-0001-5853-4994>, e-mail: Karine.Sargsyan@cshs.org

¹The Ukrainian Association of Biobanks, Medical University of Graz, Graz, Austria

²International Biobanking and Education, Medical University of Graz, Graz, Austria

³Kharkiv National Medical University
of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

⁴Hospital of Saint Alexander, Kielce, Poland

⁵Educational and Scientific Institute of Postgraduate Education
of Kharkiv National Medical University

of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

⁶Communal non-commercial enterprise

«Kyiv City Clinical Oncology Center», Kyiv, Ukraine

⁷Yerevan State Medical University after Mkhitar Heratsi, Yerevan, Armenia

Ключові слова:

рак грудної залози, асоційований із вагітністю, PABC, мутація BRCA1, активність Na⁺/K⁺-АТФази, молекулярне профілювання, оксидативний стрес, мікрооточення пухлини.

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Рак грудної залози, асоційований із вагітністю (PABC), діагностується під час вагітності або протягом першого року після пологів.

Мета роботи – проаналізувати рецидив раку грудної залози під час вагітності, зокрема гістологічні форми, рецепторний статус та біохімічні маркери.

Матеріали та методи. Було досліджено 83 пацієнтки, яких розподілили на дві групи: група 1 (n = 35) – з рецидивом захворювання; група 2 (n = 48) – без рецидиву.

Результати. Найпоширенішою гістологічною формою був інвазивний протоковий рак (65,3%), змішаний інвазивний протоково-часточковий рак (11,2%) та інвазивний часточковий рак (7,8%). Молекулярні підтипи включали: Luminal A (51,7%), Luminal B (7,8%), HER2-позитивний (5,4%) та потрійно-нега-

Для кореспонденції:

Іванова Юлія Вікторівна

Харківський національний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України, кафедра хірургії № 1; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022; e-mail: dr.ivanova23@gmail.com

© Леп'ярчик М., Іванова Ю.В., Граматюк С.М., Козуб М.М., Криворучко І.А., Харченко К.В., Сарксян К., 2025

Для цитування:

Леп'ярчик М., Іванова Ю.В., Граматюк С.М., Козуб М.М., Криворучко І.А., Харченко К.В., Сарксян К. Маркери прогнозу рецидиву раку грудної залози під час вагітності. *Український радіологічний та онкологічний журнал*. 2025. Т. 33. № 2. С.171–188. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2025.171-188>

Key words:

pregnancy-associated breast cancer, PABC, BRCA1 mutation, Na⁺/K⁺-ATPase activity, molecular profiling, oxidative stress, tumor microenvironment.

For correspondence:

Ivanova Yulia Viktorivna

Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Department of Surgery No. 1; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022; e-mail: dr.ivanova23@gmail.com

© Lepiarczyk M., Ivanova Yu.V., Gramatiuk S.M., Kozub M.M., Kryvoruchko I.A., Kharchenko K.V., Sargsyan K., 2025

For citation:

Lepiarczyk M, Ivanova YuV, Gramatiuk SM, Kozub MM, Kryvoruchko IA, Kharchenko KV, Sargsyan K. Markers of the prognosis of breast cancer relapse during pregnancy. *Ukrainian journal of radiology and oncology*. 2025;33(2):171–188. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.2.2025.171-188>

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами

Стаття є фрагментом грантового науково-дослідного проекту Української асоціації біобанків «Молекулярно-генетичні та імунологічні механізми формування пухлинних процесів жіночих репродуктивних органів», прикладна, термін виконання: 2023–2026 рр., керівник – президент Української асоціації біобанків, кандидат медичних наук С.М. Граматюк.

Дослідження виконувалося в рамках ліцензованої діяльності біобанку відповідно до законодавства України (ліцензія Міністерства охорони здоров'я України на діяльність з біобанкування пуповинної крові та інших клітин і тканин людини).

Relationship with academic programs, plans and themes

This article is part of the grant-funded research project of the Ukrainian Association of Biobanks titled «Molecular-Genetic and Immunological Mechanisms of Tumor Development in Female Reproductive Organs», (applied research, project duration: 2023–2026, principal investigator – President of the Ukrainian Association of Biobanks, Candidate of Medical Sciences, S.M. Gramatiuk.

The study was conducted within the licensed activities of the biobank in accordance with the legislation of Ukraine (license issued by the Ministry of Health of Ukraine for cord blood banking and processing of other human cells and tissues).

Дослідження є спільним проектом Біобанку Граца (Австрія), Української асоціації біобанків, кафедри медичної генетики Єреванського державного медичного університету та відділення гінекологічної ендоскопії Госпітально Святого Олександра, м. Кельце (Польща).

Біологічні матеріали (заморожені тканини, парафінові блоки, сироватка та плазма крові) зберігалися в Українській асоціації біобанків. Кожен біологічний зразок був отриманий відповідно до підписаної інформованої згоди. Дослідження було схвалене комітетом з етики Української асоціації біобанків (протокол № 1206-17/23).

This research is a joint project of the Graz Biobank (Austria), the Ukrainian Association of Biobanks, the Department of Medical Genetics of Yerevan State Medical University (Armenia), and the Department of Gynecological Endoscopy of St. Alexander Hospital in Kielce (Poland).

Biological materials (frozen tissues, paraffin blocks, serum, and plasma samples) were stored at the Ukrainian Association of Biobanks. Each biological sample was obtained with signed informed consent. The study was approved by the Ethics Committee of the Ukrainian Association of Biobanks (protocol No. 1206-17/23).

ВСТУП

Рак грудної залози (РГЗ), що діагностується або рецидивує під час вагітності чи протягом першого року після пологів, класифікується як рак грудної залози, асоційований із вагітністю (РАВС). Ця форма захворювання зустрічається приблизно в одній з 3000 вагітних жінок і є другою за частотою серед зл�якісних новоутворень, що ускладнюють перебіг вагітності.

Середній вік пацієнток із РАВС варіюється в межах 28–40 років. Водночас лише 6,5% випадків РГЗ, не пов'язаного з вагітністю, реєструються у жінок віком до 40 років. З огляду на тенденцію до відтермінування народження дитини – понад 65% жінок стають матерями після 35 років – та збільшення поширеності РГЗ, прогнозується зростання частоти РАВС.

Фізіологічні зміни під час вагітності, зокрема гормональна перебудова та морфологічні трансформації грудних залоз, значно ускладнюють своєчасну діагностику і динамічне спостереження цього онкологічного процесу.

Згідно з дослідженням Boere I та співавт., у разі настання вагітності впродовж двох років після встановлення діагнозу РГЗ відносний ризик летального наслідку у таких жінок підвищується у 1,58 разу порівняно з тими, хто не завагітнів [6].

Однак, оскільки РАВС є рідкісним захворюванням із численними змінними, не існує рандомізованих контрольованих досліджень цього стану. Більшість доступних даних щодо діагностики та моніторингу отримані з клінічних випадків, ретроспективних когортних досліджень або ситуаційних досліджень.

Флуоресценція є універсальним інструментом для вивчення біохімічних, цитологічних та фотохімічних молекулярних взаємодій. Вона має низку переваг над іншими методами, зокрема високу чутливість, швидкість та безпечність. Останнім часом цей метод активно застосовується для діагностики онкологічних захворювань. Встановлено, що деякі речовини, зокрема похідні порфіринів, накопичуються в пухлинній тканині значно більше, ніж у нормальних тканинах. Пухлинні тканини мають знижений позаклітинний рН через підвищене утворення молочної кислоти, що є наслідком посиленого споживання кисню пухлиною.

Наше дослідження базується на аналізі спектрів окисдованих флавінових молекул, які є основними компонентами ланцюга електронного транспорту. Гіпоксія характерна для більшості пухлин і впливає на клітинне та тканинне дихання, що підтверджується змінами у співвідношенні коферментів нікотинамідаденіндинуклеотиду (NAD) та флавінаденіндинук-

INTRODUCTION

Breast cancer diagnosed or recurring during pregnancy or within the first year postpartum is classified as pregnancy-associated breast cancer (PABC). This malignancy occurs in approximately 1 in 3,000 pregnant women and is the second most common neoplasm complicating pregnancy [1, 2].

The median age of patients with PABC ranges from 28 to 40 years. An important note is that 6.5% of breast cancer cases unrelated to pregnancy are diagnosed in women younger than 40. Since the pattern of delayed childbearing has been rising along with the increased incidence of breast cancer (more than 65% of women deliver after the age of 35), the prevalence of PABC is increasing [3, 4].

Physiological modifications associated with pregnancy, including hormonal alterations and structural changes of the mammary glands, create considerable obstacles for the early diagnosis and clinical monitoring of this neoplastic disease [5, 6].

For example, based on the study by Boere I et al., pregnant women within two years of breast cancer diagnosis have a 1.58 times higher risk of mortality than women with a history of breast cancer who were not pregnant [6].

However, as PABC is a relatively rare event surrounded by many variables, there are no randomized controlled trials of PABC. Most data on our diagnostic and monitoring methods come from case reports, retrospective cohort descriptions, or situational studies.

Fluorescence is a powerful, general-purpose tool in the studies of biochemical, cytological, and photochemical molecular interactions. Fluorescence possesses considerable advantages over alternative analytical methods, such as extreme sensitivity for detection, rapid detection rates, and a favorable safety profile. This method has been progressively applied in oncological diagnostics over the years. Some studies have shown that some compounds like porphyrin derivatives tend to accumulate in tumor tissues with much higher levels than normal tissues [11]. Moreover, this phenomenon is linked to the acidic extracellular microenvironment generated by the production of lactic acid in higher rates due to increased oxygen consumption in malignant cells [7].

We study the fluorescence spectra of oxidized flavin molecules that participate in the electron transport chain. The well-known feature of hypoxia in the context of solid tumors, leads to a different cellular and tissue respiration, which can be detected by analysed the relative quotient

леотиду (FAD). Це можна підтвердити вимірюванням інтенсивності та/або часу життя флуоресценції.

Патологічні зміни у клітинному метаболізмі оцінюються за допомогою флуоресцентного сигналу амінокислот, таких як L-триптофан. Через активний метаболізм у пухлинних клітинах і аномально високу швидкість їх проліферації спостерігається підвищене поглинання L-триптофану з мікрооточення. З іншого боку, триптофан чутливий до кислотності середовища, тому зі зниженням рН тканин його флуоресцентний максимум зміщується в довгохвильову ділянку.

Клітини РГЗ можуть індукувати аутофагічну загибель, а також апоптоз за рахунок підвищення внутрішньоклітинного рівня Ca^{2+} через інгібування Na^{+}/K^{+} -АТФази. Нещодавні дослідження показали, що ці сполуки вибірково викликають загибель певних типів людських пухлинних клітин, але не впливають на мишачі пухлинні клітини та нормальні людські клітини.

Na^{+}/K^{+} -АТФаза є фармакологічним рецептором для серцевих глікозидів. Останні дослідження свідчать, що, окрім функції іонного насоса, Na^{+}/K^{+} -АТФаза бере участь у формуванні сигнальних комплексів, які передають сигнали в різні внутрішньоклітинні компартменти, а також у регуляції щільних міжклітинних контактів епітеліальних клітин. Таким чином, α -3 ізоформа Na^{+}/K^{+} -АТФази може бути важливою мішенню для протипухлинної терапії.

У цій статті ми розглядаємо дані щодо рецидиву РГЗ під час вагітності, включаючи захворюваність, методи діагностики та маркери прогнозування рецидиву. Крім того, аналізуються наявні відомості про розповсюдження РГЗ під час вагітності, що є важливим питанням для виживання молодих пацієнток.

Мета роботи – оцінка значення автофлуоресценції порфіринів у зразках РГЗ та визначення максимальної швидкості окиснення як прогностичного критерію рецидиву захворювання під час вагітності.

of key metabolite cofactors, e.g. NAD and FAD. Fluorescence intensity and/or fluorescence lifetime are measured to quantitatively assess these metabolic changes [7–9]. Pathological changes in cellular metabolism are assessed by the fluorescent signal of amino acids such as L-tryptophan. Due to the intensive metabolism in tumor cells and the abnormal rate of their proliferation, higher absorption of L-tryptophan from the microenvironment is required. On the other hand, tryptophan is sensitive to the environment's acidity; therefore, its fluorescence maximum shifts to the long wavelength region as tissue pH decreases [10, 11].

Ley-Ngardigal S (2022), reported that Na^{+}/K^{+} -ATPase inhibition leads to an increase in intracellular Ca^{2+} levels in breast cancer cells, which in turn induces apoptosis and also autophagic cell death. These compounds have been shown recently in studies, including those carried out in our lab, to selectively kill a small number of human cancer cells while sparing murine tumor cells and normal human cells [8–10].

Na^{+}/K^{+} -ATPase is recognized as a pharmacological receptor for cardiac glycosides. However, accumulating evidence reveals that Na^{+}/K^{+} -ATPase plays a far broader role than functioning simply as an ion pump, and is now considered to be involved in the assembly of signalling transduction complexes involved in signalling transduction events as well as the modulation of epithelial tight junctions [11, 12]. Well, in this regard, the α -3 isoform of Na^{+}/K^{+} -ATPase has emerged as a novel promising target for anticancer therapy [13–15].

In this article, we will look at the data on breast cancer recurrence during pregnancy, including morbidity, diagnosis, and markers of relapse diagnosis. Additionally, we are considering some available information on the reproduction of breast cancer during pregnancy, which is a significant issue for survival for young patients with breast cancer.

Objective – to determine the value of auto-fluorescence of porphyrins in breast cancer samples and the maximum oxidation rate for predicting breast cancer recurrence during pregnancy.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

MATERIALS AND METHODS

У дослідженні взяли участь 35 жінок, які склали основну групу (група 1). У них РГЗ був діагностований за п'ять років до рецидиву, що настав під час вагітності. Середній термін вагітності на момент діагностики рецидиву становив 18,4 тижні. 82% пацієнток продовжили вагітність із середнім терміном пологів у 34,6 тижні.

Усі 35 пацієнток групи 1 отримували комплексне лікування після первинного встановлення діагнозу РГЗ до настання вагітності, включаючи хірургічне втручання, хіміо- та/або променевою терапію.

Контрольна група (група 2) складалася з 48 жінок, які мали в анамнезі РГЗ, але їхня вагітність пройшла без рецидиву захворювання. Вік пацієнток варіювався від 21 до 40 років.

Середній вік пацієнток у групі 1 становив $29,2 \pm 4,8$ року, у групі 2 – $30,1 \pm 5,3$ року.

Рецидивом вважали локалізоване новоутворення у тій самій грудній залозі, у післяопераційному рубці, регіонарне ураження (в сусідніх лімфатичних вузлах) або віддалені метастази. Виявлення раку в протилежній грудній залозі без інших ознак хвороби

The thirty-five female patients participated in the study – the leading group (Group 1) with breast cancer diagnosed for five years, followed by relapse during pregnancy. Biological samples were collected between 2017 and 2023 in collaboration with the Ukrainian Association of Biobanks and oncology clinics in Kharkiv, Graz, and Kyiv (including the Department of Minimally Invasive Surgery at the Kyiv City Clinical Oncology Center until 2022) – the leading group (Group 1) with breast cancer diagnosed for five years, followed by relapse during pregnancy. Among the relapse during pregnancy patients, the mean term at diagnosis was 18.4 weeks of gestation. 82% of the patients continued their pregnancy with a mean word at delivery of 34.6 weeks of gestation.

All 35 patients in Group 1 received comprehensive treatment following the initial diagnosis of breast cancer prior to pregnancy, including surgery, chemotherapy, and/or radiotherapy.

The second group consisted of 48 women – a comparison group (Group 2) whose breast cancer was also in the history and their pregnancy proceeded

не розглядалося як рецидив, і такі пацієнтки не були включені до дослідження.

Це дослідження є спільним проєктом Біобанку Граца (Австрія), Української асоціації біобанків, кафедри медичної генетики Єреванського державного медичного університету та відділення гінекологічної ендоскопії Госпіталю Святого Олександра, Кельце. Матеріали (заморожені тканини, парафінові блоки), а також сироватка та плазма крові зберігалися в Українській асоціації біобанків. Кожен біологічний зразок був отриманий відповідно до підписаної інформованої згоди. Дослідження було схвалене комітетом з етики Української асоціації біобанків (1206-17/23).

Біологічні зразки були зібрані в період з 2017 по 2023 рік у партнерстві з Українською асоціацією біобанків, онкологічними клініками в Харкові, Граці та Києві (включаючи відділення малоінвазивної хірургії Комунального некомерційного підприємства «Київський міський клінічний онкологічний центр», до 2022 року).

Дані про вік, расу, соціальний та медичний анамнез пацієнток, тип хірургічного втручання, хіміотерапію, променеву терапію, клінічну та патологічну оцінку, формулювання та пухлинні маркери були доступні для всіх учасниць. Панель ER, PR і HER2 використовувалася для класифікації молекулярного підтипу пухлини, зокрема для виявлення потрійно-негативного раку грудної залози. Було проведено багатоаспектний аналіз, включаючи фенотип BRCA+/- серед пацієнток, експресію альдегіддегідрогенази, формування мамосфер та методику магнітно-активованого сортування клітин для метаболічного розподілу популяції пухлинних клітин на «низькоенергетичні» та «високоенергетичні» субпопуляції. У деяких неоднозначних випадках застосовували флуоресцентну гібридизацію *in situ* (FISH). Оцінку лімфоваскулярної інвазії проводили за допомогою забарвлення гематоксином та еозином (H&E) у біопсійних та гістологічних зразках.

Типові патологічні процеси відображаються у зміні енергетичних характеристик клітинних мембран і характеризуються змінами у синтетичних та окисно-відновних процесах у ланцюгу транспорту електронів. Ми припустили, що ці зміни відбуваються вже на ранніх стадіях захворювання, а їхній зсув у співвідношенні мітохондріальних коферментів може слугувати раннім критерієм – прогностичним маркером рецидиву.

Ми дослідили спектральні характеристики післяопераційних тканин шляхом вимірювання спектрів поглинання та флуоресценції біопсійного матеріалу у пацієнток із рецидивом РГЗ під час вагітності та без рецидиву. Для аналізу спектральних характеристик тканин використовували довжини хвиль: 500–580 нм, 330–360 нм та 220–266 нм.

Мітохондрії еритроцитів і пухлинної тканини були виділені для визначення загальної ензиматичної активності Na⁺/K⁺-АТФази та Mg²⁺-АТФази. Інкубація ферменту визначала загальну активність АТФази при 37°C, рН 7,5 у розчині (кінцевий об'єм 0,5 мл), що містить АТФ. Активність Na⁺/K⁺-АТФази та Mg²⁺-АТФази виражалася у мкмольх неорганічного фосфату (Pi), що вивільнявся на годину на міліграм білка (мкмоль Pi/мг білка/год).

without relapse of the disease. The age of patients ranged from 21 to 40 years.

The average age of patients in Group 1 was 29.2 ± 4.8 years, while in Group 2 it was 30.1 ± 5.3 years.

We considered relapse a localized formation in the same breast, in the postoperative surgical suture, regional (in the adjacent lymph nodes), or in a remote area. Cancer detected in the opposite breast without any cancer anywhere else was not a relapse – it is new cancer that requires treatment, and such kind of women was not included in this study.

This study is a collaborative project involving the Biobank Graz (Austria), the Ukrainian Association of Biobanks, the Department of Medical Genetics, Yerevan State Medical University, and the Department of Gynecological Endoscopy, St. Alexander Hospital, Kielce.

Biological materials, including frozen tissues, paraffin-embedded blocks, as well as serum and plasma samples, were stored at the Ukrainian Association of Biobanks. Each biological specimen was collected in full compliance with a signed informed consent form. The study was approved by the Ethics Committee of the Ukrainian Association of Biobanks (Approval No. 1206-17/23).

The data on age, race, social and medical patient's history, type of operation, chemotherapy, radiotherapy, clinical and pathological evaluation, formulation, and tumor markers were available to all patients.

Using the expression panel of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), Triple-negative molecular subtype breast cancer was classified. Using exome-based mutation detection, comprehensive analyses of BRCA-positive and BRCA-negative populations, aldehyde dehydrogenase and mammosphere formation were conducted, and magnetic-activated cell sorting (MACS) segregated breast cancer cell populations into identifiable metabolically distinct subpopulations described as «low-energy» and «high-energy» cells. In ambiguous cases of HER2, the executive was used to verify with fluorescence *in situ* hybridization (FISH).

Lymphovascular invasion was assessed by study pathologists via hematoxylin and eosin (H&E) staining of intact biopsy and pathological specimens. Increased synthesis and oxidation-reduction processes in the electron transport chain reflect the bioenergetic phenotypes of cell membranes, which are presented in close relation to the large group of pathological processes in breast cancer cells. These metabolic changes are thought to occur early in the disease, and alterations in mitochondrial functional dynamics may provide an early, clinically relevant biomarker for predicting relapse.

We studied the spectral characteristics of postoperative tissues by measuring the absorption spectra and fluorescence of the biopsy material from patients with breast cancer relapse during pregnancy and without recurrence. To study the fabric's spectral characteristics, we have used the following wavelengths: 500–580 nm, 330–360 nm, and 220–266 nm.

Erythrocyte mitochondria and tumor tissue were isolated to quantify the total enzymatic activity of Na⁺/K⁺-ATPase and Mg²⁺-ATPase. Enzyme incubation was conducted to assess ATPase activity under controlled conditions at 37°C and pH 7.5 in a reaction solution with a final volume of 0.5 mL, containing ATP as the substrate. The enzymatic activities of Na⁺/K⁺-ATPase and Mg²⁺-ATPase were quantified and expressed as

Утримання мітохондрій в еритроцитах

Еритроцити п'ять разів промивали у фосфатно-сольовому буфері (PBS), що містив 145 мМ NaCl, 5 мМ фосфату натрію (NaPi) та 1 мМ етилендіамінтетраоцтової кислоти (EDTA) при pH 7,4. Лейкоцити ефективно видаляли шляхом фільтрації через мембрану на основі целюлози (Durapore® Membrane Filter, 0,22 мкм, Merck).

Загальні мітохондрії еритроцитів виділяли за допомогою диференційного центрифугування при $3716 \times g$ протягом 30 хвилин при 4°C , після чого здійснювали додаткове очищення на градієнті Percoll® (pH 8,5–9,5, Sigma-Aldrich). Цілісність мітохондрій оцінювали шляхом визначення вивільнення цитохрому c із використанням комерційного набору (Cytochrome C Oxidase Assay Kit, ab239711, Abcam).

Ферментативну активність цитохром-с-оксидази кількісно визначали за допомогою зручного методу у 96-лунковому планшеті. Основою методу вимірювання окиснення відновленого цитохрому c; активність ферменту визначали колориметрично за зменшенням поглинання при 550 нм [7].

Оцінка енергетичного статусу клітин за допомогою визначення співвідношення ADP/ATP

Набір для визначення співвідношення ADP/ATP (біолюмінесцентний) (ab65313, Abcam) забезпечує точний та простий метод кількісного визначення внутрішньоклітинних рівнів ADP та ATP, що дає змогу оцінювати апоптоз, некроз і проліферацію клітин. Метод ґрунтується на біолюмінесцентній реакції, у якій люцифераза каталізує перетворення АТФ та люциферину на світло, яке фіксується люмінометром (Berthold Centro LB 960 Microplate Luminometer). Концентрація ADP визначалась непрямим шляхом через його ферментативне перетворення в АТФ з подальшим люмінесцентним вимірюванням у тій самій реакційній системі.

Для кількісного аналізу статичну концентрацію АТФ (нМ АТФ/ОП) визначали за спрощеною формулою $Lo/\alpha d$, де Lo – світловий сигнал, αd – коефіцієнт перерахунку. Синтетичну активність АТФ (нМ АТФ/хв/ОП) обчислювали за формулою $\Delta/\alpha d$, де Δ – зміна люмінесценції з часом. Коефіцієнт α відповідає фактору перерахунку люмінесценції в АТФ, отриманому з калібральної кривої АТФ (RLU/нМ АТФ) [8].

Визначення активності Na^+/K^+ -АТФази

Концентрацію білка визначали за модифікованим методом Лоурі та співавт. (1951). Оптичну щільність білка вимірювали в діапазоні 1–100 мкг при 700 нм у 1,1 мл мікроаналізі при кімнатній температурі після 5-хвилинної інкубації. Як еталонний білок використовували сироватковий альбумін великої рогатої худоби (BSA) [12].

Ізоляція мембран пухлинної тканини для аналізу активності АТФази

Плазматичні мембрани, ізольовані з клітин раку грудної залози, готували за методиками, описаними Kumar Ma; 2020 [9], та Slattery Ka; 2021 [12].

micromoles of inorganic phosphate (Pi) released per hour per milligram of protein ($\mu\text{mol Pi}\cdot\text{mg protein}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), following the methodology adapted from Liang N (2023) [11].

Mitochondrial-erythrocytes retention

Erythrocytes were washed five times with phosphate-buffered saline (PBS) containing 145 mM NaCl, 5 mM sodium phosphate (NaPi), and 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) at pH 7.4. White blood cells were effectively removed by filtration through a cellulose-based membrane (Durapore® Membrane Filter, 0.22 μm , Merck).

Total erythrocyte mitochondria were isolated using differential centrifugation at $3,716 \times g$ for 30 minutes at 4°C , followed by further purification on a Percoll® gradient (pH 8.5–9.5, Sigma-Aldrich). Mitochondrial integrity was evaluated by assessing cytochrome c release, utilizing a commercially available assay kit (Cytochrome C Oxidase Assay Kit, ab239711, Abcam). The enzymatic activity of cytochrome C oxidase was quantified using a rapid and straightforward 96-well plate format. The assay measured the oxidation of reduced cytochrome c, with enzymatic activity determined colorimetrically by monitoring the decrease in absorbance at 550 nm [7].

Assessment of Cellular Energy Status Using the ADP/ATP Ratio Assay

The ADP/ATP Ratio Assay Kit (Bioluminescent) (ab65313, Abcam) provides a robust and straightforward methodology for quantifying intracellular ADP and ATP levels, enabling the assessment of apoptosis, necrosis, and cell proliferation. This assay is based on a bioluminescent reaction in which luciferase catalyzes the conversion of ATP and luciferin into light, which is subsequently detected using a luminometer (Berthold Centro LB 960 Microplate Luminometer). The ADP concentration is indirectly determined by its enzymatic conversion into ATP, followed by luminescent detection within the same reaction system.

For quantitative analysis, the static ATP concentration (нМ АТФ/ОД) was determined using the simplified calculation $Lo/\alpha d$, where Lo represents luminescence output and αd is the conversion coefficient. The ATP synthetic activity (нМ АТФ/мін/ОД) was calculated as $\Delta/\alpha d$, where Δ represents the luminescence change over time. The coefficient α corresponds to the luminescence-to-ATP conversion factor, derived from an ATP standard curve (RLU/нМ АТФ) [8].

Activity Determination of Na^+/K^+ – ATPase

Protein concentration was determined using a modified version of the Lowry et al. (1951) method. The protein absorbance was measured within a range of 1–100 μg at 700 nm in a 1.1 mL microassay at room temperature, following a 5-minute incubation period. Bovine serum albumin (BSA) was utilized as the standard reference protein [12].

Membrane Isolation from Tumor Tissue for ATPase Activity Assay

Plasma membranes isolated from breast cancer cells were performed note using the methods detailed by Kumar Ma; 2020 [9], and using Slattery Ka; 2021 [12].

З 50 г пухлинної тканини в середньому отримували 30–40 мг очищених фракцій плазматичних мембран.

Крок 1: Гомогенізація. Для гомогенізації тканин використовували ультралінійний гомогенізатор Dispergierer Mischer AD300L-H Digitalanzeige. 0,2 г пухлинної тканини додавали до 0,5 мл Tris-буфера (5 мМ, рН 7,4), розчину сахарози (0,25 М) та EGTA (0,2 мМ). Гомогенізацію проводили при 7000 об/хв протягом 1,5 хвилини при температурі 4°C, після чого гомогенат центрифугували при $8\,714 \times g$ протягом 10 хвилини, а надосадову рідину видаляли.

Крок 2: Підготовка та центрифугування градієнтів. Осад ресуспендували у тій самій буферній системі, після чого готували градієнт 1:1 на основі Tris-буфера (5 мМ, рН 7,4), розчину сахарози (1,4 М) та EGTA (0,2 мМ).

Статистичний аналіз

Статистичні тести проводилися за допомогою програмного забезпечення Statistica 8.0 та Microsoft Excel (США). Використовували двобічний t-критерій Стьюдента. Відмінності вважалися статистично значущими при р-значенні < 0,01. Результати наведені як середнє значення \pm стандартна похибка середнього (S.E.M.). Обробку даних здійснювали за допомогою програм GraphPad Prism 10.0 та IBM SPSS Statistics 29.0. Нормальність розподілу перевіряли за допомогою тесту Шапіро–Уїлка. Для порівняння двох незалежних груп використовували t-критерій Стьюдента при нормальному розподілі, або критерій Манна–Уїтні при ненормальному розподілі.

Кількісні дані наведено як середнє значення \pm стандартне відхилення (SD), якщо не вказано інше. Статистично значущими вважалися результати при $p < 0,05$.

Для врахування множинних порівнянь (зокрема в аналізі активності мітохондріальних ферментів) застосовувалася поправка Бонферроні. Усі тести були двосторонніми.

From 50 g of tumor tissue, on average 30–40 mg purified plasma membrane fractions were obtained.

Step 1: Homogenization. The Ultra Labor Homogenizer Dispergierer Mischer AD300L-H Digitalanzeige was used to homogenize the tissues, and 0.2 g of tumor tissue was added into 0.5 mL of Tris buffer (5 mM, pH 7.4), sucrose solution (0.25 M) and EGTA (0.2 mM). Homogenization was performed at 7,000 rpm for 1.5 minutes at 4°C, and the homogenate was centrifuged at $8,714 \times g$ for 10 minutes, the supernatant was discarded.

Step 2: Prepare and centrifuge gradients. The pellet was resuspended in the same buffer system, and a 1:1 gradient was made of Tris buffer (5 mM, pH 7.4), sucrose solution (1.4 M) and EGTA (0.2 mM).

Statistical Analysis

Statistical analyses were performed using Statistica 8.0 and Microsoft Excel (USA). An unpaired two-tailed Student's t-test was applied to compare differences between experimental groups, with statistical significance defined as $p < 0.01$. The results are expressed as the mean value accompanied by the standard error of the mean (S.E.M.). Data were analyzed using GraphPad Prism 10.0 and IBM SPSS Statistics 29.0. Normality of distribution was assessed using the Shapiro–Wilk test. For comparisons between two independent groups, the unpaired Student's t-test was applied for normally distributed data, while the Mann–Whitney U-test was used for nonparametric distributions.

Quantitative data are presented as mean \pm standard deviation (SD), unless otherwise indicated. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

To account for multiple comparisons (e.g., in mitochondrial enzyme activity data), the Bonferroni correction was applied where appropriate. All tests were two-tailed.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

RESULTS AND DISCUSSION

На першому етапі дослідження було проаналізовано гістологічну форму раку, розмір пухлини, рецепторний статус та мутацію BRCA1 у пацієнток двох груп.

За результатами дослідження встановлено, що переважаючою гістологічною формою первинного РГЗ був інвазивний протоковий рак, який виявлено у 65,3% жінок. Другою за частотою формою був змішаний інвазивний протоково-часточковий рак (11,2%), далі – інвазивний часточковий рак (7,8%). Нейроендокринний рак діагностували у 5,1% випадків, тоді як хвороба Педжета грудної залози була виявлена у 4,2% випадків. Інші рідкісні гістологічні форми, зокрема медулярний, тубулярний, папілярний і муцинозний рак, становили 6,5% випадків. У нашому дослідженні домінували пухлини розміром від 2 до 5 см, що спостерігалось у 62,9% випадків (табл. 1).

Імуногістохімічна характеристика пухлин показала переважання підтипу Luminal A в обох групах, з вищою частотою у пацієнток другої групи (50,0% проти 34,3). У групі 1 також відмічено більший відсоток тричі негативного підтипу (22,9% проти 16,7) та HER2+ (20,0% проти 13,3), що вказує на потенційно агре-

In the preliminary study, the histological form of cancer, tumor size, receptor status, and BRCA1 mutation were analyzed in patients from two groups.

As a result of the research, it was established that the predominant histological form of primary breast cancer was invasive ductal carcinoma, which was detected in 65.3% of women. The second most frequent occurrence was mixed invasive ductal-lobular carcinoma at 11.2%, followed by invasive lobular carcinoma at 7.8%. Neuroendocrine carcinoma was diagnosed in 5.1% of cases, while Paget's disease of the breast was found in 4.2% of cases. Other rare histological forms, including medullary, tubular, papillary, and mucinous carcinomas, accounted for 6.5% of cases. In our study, tumors ranging in size from 2 to 5 cm were predominant, occurring in 62.9% of cases (Table 1.).

The immunohistochemical characterization of tumors revealed a predominance of the Luminal A subtype in both groups, with a higher frequency among patients without pregnancy (50.0% vs. 34.3). Group 1 also demonstrated a higher proportion of triple-negative subtype (22.9% vs. 16.7) and HER2+ subtype (20.0% vs. 13.3), suggesting a potentially more aggressive disease course

сивніший перебіг захворювання у пацієток, у яких рецидив настав під час вагітності. Частка Luminal B підтипу була співмірною у двох групах (табл. 2).

in patients who experienced recurrence during pregnancy. The proportion of the Luminal B subtype was comparable between the two groups (Table 2.).

Таблиця 1. Гістологічні форми та імуногістохімічний аналіз експресії молекулярних маркерів у клітинах епітелію грудної залози
Table 1. Histological form and Immunohistochemical analysis of expression in mammary epitheliocytes

Гістологічні форми первинного раку грудної залози Histological form of primary breast cancer	Група 1 Group 1	Група 2 Group 2	Всього Total
	N = 35	N = 48	%
Інвазивна протокова карцинома / Invasive ductal carcinoma	37,3	28,0	65,3
Змішана інвазивна протоково-часточкова карцинома Mixed invasive ductal-lobular carcinoma	6,4	4,8	11,2
Інвазивна часточкова карцинома / Invasive lobular carcinoma	3,6	4,2	7,8
Нейроендокринна карцинома / Neuroendocrine carcinoma	2,3	2,8	5,1
Хвороба Педжета грудної залози / Paget's disease of the breast	1,9	2,3	4,2
Інші рідкісні гістологічні форми (медулярна, тубулярна, папілярна, муцинозна карцинома) Other rare histological forms (medullary, tubular, papillary, mucinous)	2,8	3,7	6,5

Таблиця 2. Імуногістохімічна характеристика підтипів РГЗ у пацієток двох груп
Table 2. Immunohistochemical characteristics of breast cancer subtypes in two patient groups

Підтип РГЗ (IHC) Breast cancer subtype (IHC)	Група 1 / Group 1, n (%)	Група 2 / Group 2 n (%)
	n = 35	n = 30
Luminal A / (ER+/PR+/HER2-/Ki-67<14%)	12 (34,3)	15 (50,0)
Luminal B / (ER+/PR+/-/HER2+/-/Ki-67>14%)	8 (22,9)	6 (20,0)
HER2+ / (ER-/PR-/HER2+)	7 (19,9)	4 (13,3)
Triple-negative / (ER-/PR-/HER2-)	8 (22,9)	5 (16,7)
Усього / Total	35 (100)	30 (100)

Примітка:

Статистичний аналіз за χ^2 -критерієм не виявив статистично значущих відмінностей у розподілі підтипів між групами ($p = 0,625$). Також, згідно з точним критерієм Фішера, частота підтипу Luminal A не відрізнялась статистично значуще між групами ($p = 0,219$). Мутація BRCA1 не входить до класифікації молекулярних підтипів і розглядається окремо від імуногістохімічного профілю.

Note:

Statistical analysis using the χ^2 -est revealed no statistically significant differences in the distribution of subtypes between the groups ($p = 0.625$). Additionally, according to Fisher's exact test, the frequency of the Luminal A subtype did not differ significantly between the groups ($p = 0.219$). BRCA1 mutation is not part of molecular subtype classification and is analyzed separately from the immunohistochemical profile.

Пухлинні клітини з позитивною рецепторною експресією в групі рецидиву були значно менш численними, ніж пухлинні клітини з негативною рецепторною експресією ($p < 0,05$), що становило 64,9% від загальної кількості досліджень. Значення «р» було статистично значущим при порівнянні випадків групи 1 з контрольною групою.

Зокрема, 67% пацієток із групи 1 мали мутацію BRCA1. Носії мутації BRCA1 були на статистично значущому рівні молодшими (середній вік 21,9 року проти 30,5 року, $p < 0,001$) і мали вищу частоту ER-позитивних пухлин (38,1% проти 12,7, $p < 0,001$).

Аналіз динаміки змін рецепторного статусу раку грудної залози у вікових групах не виявив статистично значущих відмінностей ($p = 0,14$). Однак спостерігалася тенденція до збільшення частоти ER-позитивного РГЗ з віком. У групі жінок віком до 35 років частка ER-позитивних пухлин становила 56,7%, тоді як у групі старше 37 років – 75,6%.

Не було виявлено значущих відмінностей між групами за стадією раку, типом хірургічного втручання, проведенням променевої терапії та хіміотерапії.

На другому етапі дослідження було проведено флуоресцентний аналіз хірургічного та біопсійного

Receptor-positive tumor cells in the relapse of breast cancer were significantly fewer than receptor-negative cases ($p < 0.05$), accounting for 64.9% of the total number of studies. The P value was significant when comparing Group 1 cases to their controls.

Note: Statistical analysis using the χ^2 test revealed no significant differences in the distribution of molecular subtypes between the groups ($p = 0.625$). Additionally, according to Fisher's exact test, the frequency of the Luminal A subtype did not differ significantly between the groups ($p = 0.219$). BRCA1 mutation is not part of molecular subtype classification and is analyzed separately from the immunohistochemical profile.

A significant proportion (67%) of breast cancer patients in Group 1 were identified as BRCA1 mutation carriers. These individuals were notably younger, with a mean age of 21.9 years compared to 30.5 years in non-carriers ($p < 0.001$). Additionally, tumors in BRCA1-positive patients exhibited a higher prevalence of estrogen receptor (ER) positivity (38.1% versus 12.7%, $p < 0.001$).

An age-stratified analysis of receptor status dynamics in breast cancer patients did not reveal statistically significant differences ($p = 0.14$). However, an increasing trend in receptor-positive breast cancer cases with advancing age was

матеріалу пацієнок обох груп. Зразки тканин відбиралися з центральної частини пухлинного осередку для забезпечення однорідності спектрального аналізу.

Наші результати показали, що найбільш інформативними флуоресцентними спектрами для виявлення раних маркерів рецидиву пухлини є спектри при 337 і 285 нм. Ці довжини хвиль відповідають відновленому нікотинамідаденіндинуклеотиду (NADH), колагеназі та еластину. Довжина хвилі 285 нм відображає стан ароматичних амінокислот, таких як триптофан, тирозин і фенілаланін, а також асоційованих білків. Довжина хвилі 337 нм збігається з піком поглинання NADH і окисдованих флавінових молекул (FAD), які відіграють ключову роль у ланцюгу транспорту електронів. Флуоресценція в діапазоні 430–530 нм показала характерну смугу в ділянці 450–510 нм, що свідчить про пригнічення NADH і FAD.

Автофлуоресцентна візуалізація тканин РГЗ при 460 нм порівнювалася між групами з рецидивом та без рецидиву під час вагітності. На рисунку 1 зображено зразки тканини грудної залози, забарвлені гематоксилином-еозином (ліворуч), та відповідні незабарвлені зразки в автофлуоресцентному режимі (праворуч). Пік інтенсивності при 390 нм був більш вираженим у групі рецидиву, що вказує на високу концентрацію сполучної тканини, включаючи колаген та еластин. Це свідчить про асоціацію флуоресцентних піків при 385 і 390 нм із компонентами сполучної тканини, метаболізмом АТФ та глюкози.

observed. In patients under 35 years old, receptor-positive tumors constituted 56.7% of cases, whereas in individuals older than 37 years, the proportion increased to 75.6%.

No statistically significant differences were observed between case and control groups regarding tumor stage distribution, surgical intervention, radiation therapy, or chemotherapy administration.

In the second phase of the study, fluorescence analysis was conducted on both surgical and biopsy specimens from patients in both groups. To ensure consistency in spectral measurements, tissue samples were systematically collected from the central region of the tumor site.

Our findings indicate that the most informative fluorescence spectra for identifying early tumor relapse markers were observed at 337 and 285 nm. These wavelengths correspond to the reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH), collagenase, and elastin. The 285 nm wavelength reflects the state of aromatic amino acids such as tryptophan, tyrosine, and phenylalanine, along with associated proteins. The 337 nm wavelength aligns with the peak absorption of NADH and the oxidized flavin molecules (FAD), which play a crucial role in the electron transport chain. Fluorescence in the 430–530 nm range showed a characteristic band near 450–510 nm, indicating NADH and FAD suppression.

Auto-fluorescence imaging of breast cancer tissues at 460 nm was compared between groups with and without relapse during pregnancy. Figure 1 demonstrates hematoxylin-eosin (HE) stained breast tissue samples (left) and auto-fluorescence images of the corresponding unstained samples (right). The intensity peak at 390 nm was prominent in the relapse group, which contained high levels of connective tissue, including collagen and elastin. This suggests that fluorescence peaks at 385 and 390 nm are associated with connective tissue components, ATP, and glucose metabolism.

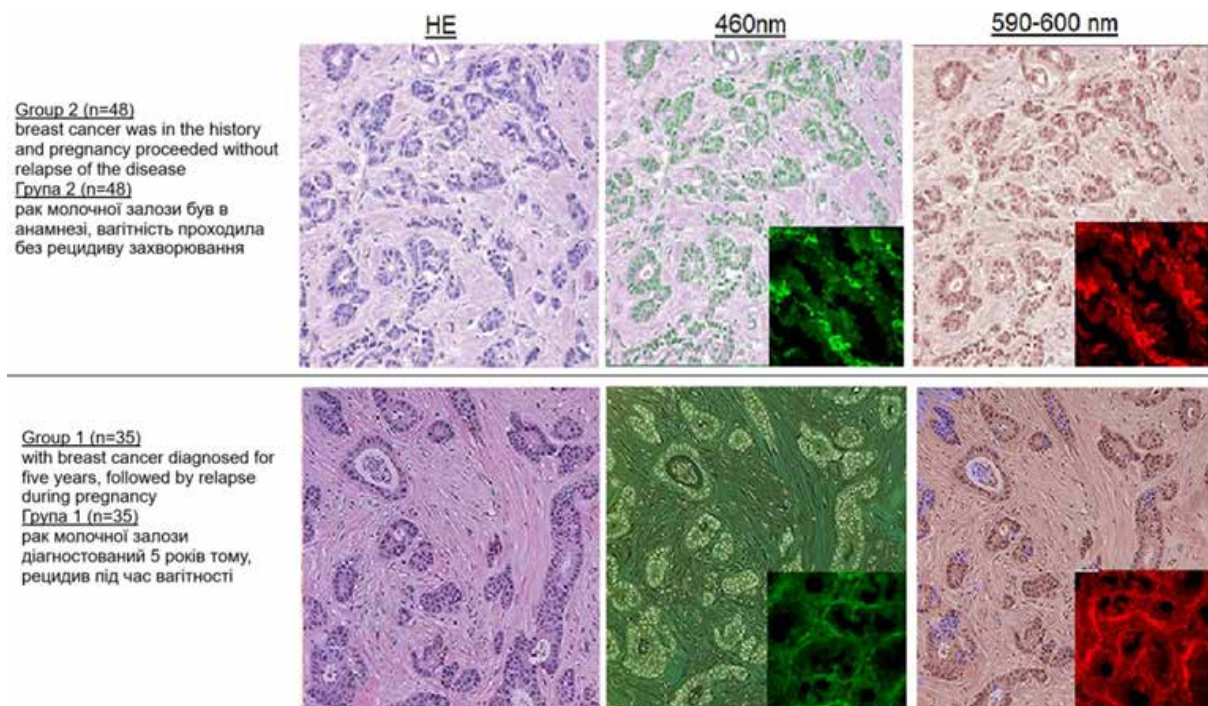


Рис. 1. Флуоресцентні спектри тканин у групах рецидиву та контролю, що демонструють спектральний розподіл серед когорт пацієнок
Fig. 1. Fluorescence spectra of tissues in relapse and control groups, showing spectral distribution across patient cohorts

На основі флуоресцентних зображень ракові ділянки були кількісно оцінені за допомогою спектрометра, що підтвердило наявність флуоресцентної смуги в діапазоні 450–510 нм, пов'язаної з активністю NADH і FAD. Ці широкі спектральні діапазони були зумовлені ендогенними флуорофорами, включаючи вільний NADH, білково-зв'язаний NADH, вільний FAD, порфірини, триптофан, колаген та еластин.

Подальше порівняння проводилось між пухлинною тканиною та прилеглою умовно інтактною ділянкою тієї ж грудної залози, на відстані не менше 2 см від межі пухлини грудної залози виявлені значні метаболічні зміни. У пацієток групи 1 (з рецидивом) відзначалося статистично значуще зниження активності О-деметилази ($9,71 \pm 0,84$ нмоль п-нітрофенолу/хв/мг білка), рівнів NADP-H цитохром С-редуктази ($278,7 \pm 17,2$ нмоль цитохрому С/хв/мг білка), швидкості ендогенного дихання ($3,42 \pm 0,38$ нмоль O_2) та окиснення NADP-H ($6,24 \pm 0,42$ нмоль O_2). Одночасно було виявлено підвищення рівня перекисного окиснення ліпідів ($2,16 \pm 0,14$ нмоль O_2). Ці біохімічні зміни супроводжувалися 2,1-разовим зниженням концентрацій цитохромів P450 ($1,83 \pm 0,12$ нмоль/мг білка) і b₅ ($1,65 \pm 0,14$ нмоль/мг білка), що вказує на активацію мікросомальних шляхів окиснення на ранніх стадіях пухлинного процесу та зниження детоксикаційних механізмів у пізніх стадіях карциногенезу.

Аналіз також показав значні зміни в активності АТФази. У групі рецидиву активність Na⁺/K⁺-АТФази була знижена на статистично значущому рівні ($0,0095 \pm 0,001$ мкмоль Рі/мг білка/год), тоді як активність Mg²⁺-АТФази була значно нижчою порівняно з контрольною групою ($0,0068 \pm 0,001$ мкмоль Рі/мг білка/год, $p = 0,006$). Цей дисбаланс свідчить про порушення іонного транспорту та метаболічну дисрегуляцію у пухлинах, що рецидивують.

Отримані результати підтверджують ефективність флуоресцентної спектроскопії для диференціювання метаболічних змін, асоційованих із рецидивом РГЗ під час вагітності. Виявлені зміни у флуоресцентних маркерах можуть слугувати потенційними предикторами раннього виявлення рецидиву пухлини, сприяючи більш точній прогностичній оцінці та персоналізованим стратегіям лікування.

Застосування флуорометричних вимірювань у кожній клітинній суспензії як у групі 2, так і в пацієток з діагностованим і рецидивуючим під час вагітності РГЗ, дозволило кількісно оцінити рівень NAD⁺, NADH, NADP⁺, NADPH, а також внутрішньоклітинний рН. Рисунок 2 ілюструє експериментальні результати, отримані у пацієток як для нормальних, так і для пухлинних ділянок грудної залози.

Ці гістограми відображають середнє співвідношення NAD⁺/NADH та NADP⁺/NADPH у групах 1 та 2 протягом клітинного циклу. У клітинах пацієток з групи 1 рівень редокс-співвідношення (NAD⁺/NADH і NADP⁺/NADPH) був у 5 та 10 разів вищим у пухлинних клітинах порівняно з клітинами пацієток з групи 2.

Співвідношення NAD⁺/NADH вказує на редокс-баланс клітини, який впливає на багато клітинних шляхів. Доступність NAD⁺ також модулює активність негістонових білків (включаючи пухлинний супресор p53) і впливає на численні клітинні відповіді. Отримані результати свідчать, що підвищення рівня NAD⁺ сприяє ацетилюванню p53 та посиленню апоптозу.

Based on fluorescence images, cancerous regions were quantified using a spectrometer, confirming the presence of a 450–510 nm fluorescence band due to NADH and FAD activity. These broad spectral ranges were influenced by endogenous fluorophores, including free NADH, protein-bound NADH, free FAD, porphyrins, tryptophan, collagen, and elastin.

Further a comparison was made between cancerous breast tissue and adjacent non-tumorous areas of the same breast specimen, at least 2 cm away from the tumor margin revealed distinct metabolic alterations. In Group 1 patients (relapse cases), a significant reduction was noted in O-demethylase activity (9.71 ± 0.84 nmol p-nitrophenol/min/mg protein), NADP-H cytochrome C reductase levels (278.7 ± 17.2 nmol cytochrome C/min/mg protein), endogenous respiration rate (3.42 ± 0.38 nmol O_2), and oxidation rates of NADP-H (6.24 ± 0.42 nmol O_2). Concurrently, an increase in lipid peroxide oxidation was detected (2.16 ± 0.14 nmol O_2). These biochemical changes were accompanied by a 2.1-fold decrease in cytochromes P450 (1.83 ± 0.12 nmol/mg protein) and b₅ (1.65 ± 0.14 nmol/mg protein) concentrations, suggesting that tumor progression is associated with the activation of microsomal oxidation pathways in early tumor development and a decline in detoxification mechanisms in advanced carcinogenesis.

The analysis also revealed significant alterations in ATPase activity. In the relapse group, Na⁺/K⁺-ATPase activity was significantly reduced (0.0095 ± 0.001 μmoles Pi/mg protein/h), while Mg²⁺-ATPase activity was notably lower compared to controls (0.0068 ± 0.001 μmoles Pi/mg protein/h, $p = 0.006$). This imbalance suggests impaired ion transport and metabolic dysregulation in recurrent tumors.

These findings underscore the utility of fluorescence spectroscopy in distinguishing metabolic shifts associated with breast cancer recurrence during pregnancy. The observed alterations in fluorescence markers can serve as potential predictive indicators for early tumor relapse detection, contributing to more precise prognostic assessments and personalized treatment strategies.

By applying the fluorometric measurements in each cell suspension, both in Group 2 and breast cancer was diagnosed and relapsed during pregnancy; we managed to quantify the amount of NAD⁺, NADH, NADP⁺, NADPH, as well as the intracellular pH. The figure shows experimental results obtained from the patients for both the normal and the cancerous region of the breast (Figure 2).

The histograms presented illustrate the average NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH ratios across the cell cycle in both patient groups. In Group 1, the redox ratios were observed to be fivefold and tenfold higher, respectively, in cancer cells compared to those in Group 2.

The NAD⁺/NADH ratio serves as a key indicator of cellular redox balance, influencing multiple metabolic pathways. Additionally, NAD⁺ availability modulates the activity of non-histone proteins, including the tumor suppressor p53, thereby impacting various cellular responses. Our findings suggest that an elevated NAD⁺/NADH ratio, with an increase in NAD⁺ levels, promotes p53 acetylation and enhances apoptotic processes in cancer cells.

A comparative analysis was performed between the redox ratios in breast tissue cells and erythrocyte mitochondria from both patient groups. Concomitantly, a significant increase in Na⁺/K⁺-ATPase activity, along with a statistically significant ($p < 0.05$) decrease in Mg²⁺-ATPase activity, was detected in erythrocyte membranes (Fig. 2).

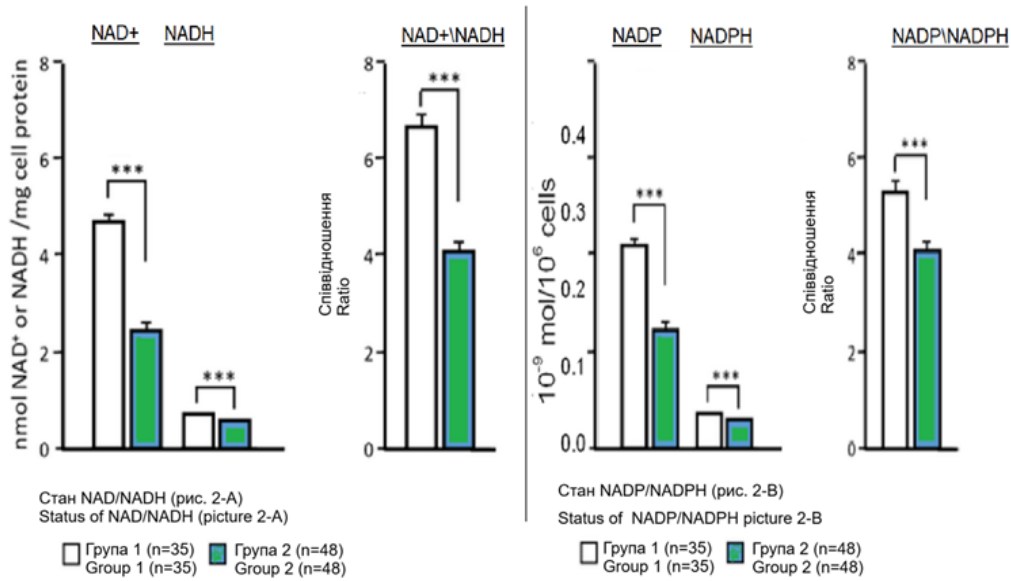


Рис. 2. Стан NAD/NADH (рис. 2-A) та NADP/NADPH (рис. 2-B): статистичну значущість визначено за допомогою t-тесту для незалежних вибірок (двосторонній), ***p < 0,001

Fig. 2. Status of NAD/NADH (picture 2-A) and NADP/NADPH picture 2-B: statistical significance was determined using a two-tailed independent samples t-test; ***p < 0.001

Ми порівняли результати дослідження редокс-співвідношень у клітинах тканини грудної залози та мітохондріях еритроцитів обох груп.

Одночасно було виявлено підвищення активності Na⁺/K⁺-АТФази при значному (p < 0,05) зниженні активності Mg²⁺-АТФази в мембранах еритроцитів крові.

Згідно з нашими даними, у пацієток основної групи спостерігалися значні зміни в активності ліпід-залежних та мембранозв'язаних АТФаз як у червоних кров'яних клітинах, так і в пухлинних тканинах (рис. 3).

Our data further indicate that patients in the primary study group exhibit significant alterations in the activity of lipid-dependent and membrane-bound ATPases, affecting both red blood cells and tumor tissues (Fig. 3).

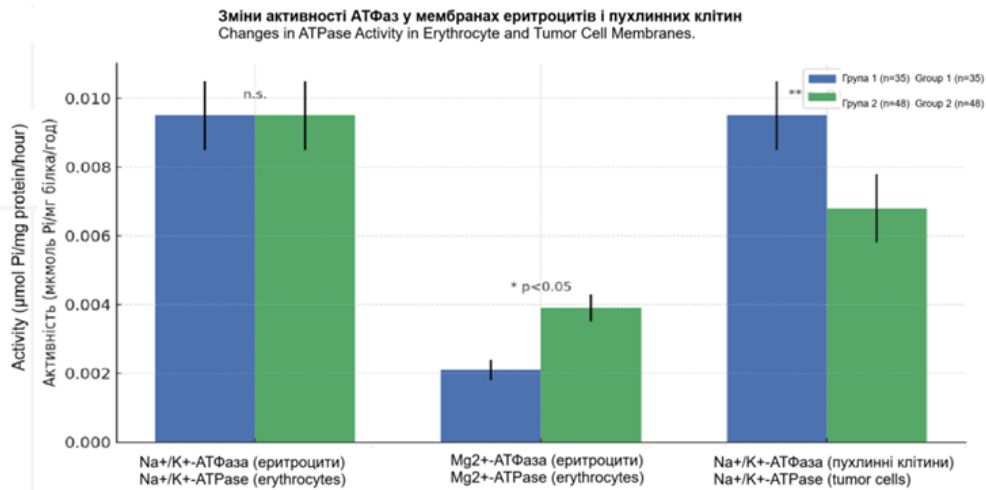


Рис. 3. Зміни активності АТФаз у мембранах еритроцитів і пухлинних клітин, з урахуванням: – середніх значень ± стандартного відхилення (SD), – відповідної статистичної значущості: – p = 0,006 для Na⁺/K⁺-АТФази у пухлинних клітинах (**), – p < 0,05 для Mg²⁺-АТФази у еритроцитах (*), – n.s. – відсутність статистично значущих змін для Na⁺/K⁺-АТФази у еритроцитах.

Fig. 3. Changes in ATPase Activity in Erythrocyte and Tumor Cell Membranes. This figure reflects: – mean values ± standard deviation (SD), – corresponding statistical significance: – p = 0.006 for Na⁺/K⁺-ATPase in tumor cells (**), – p < 0.05 for Mg²⁺-ATPase in erythrocytes (*), – n.s. – no statistically significant changes for Na⁺/K⁺-ATPase in erythrocytes.

У мембранах еритроцитів крові активність Na⁺/K⁺-АТФази знаходиться в межах норми, тоді як активність Mg²⁺-АТФази значно знижена порівняно з контрольними значеннями.

Значні зміни активності АТФаз також спостерігалися у мембранах пухлинних клітин, що підтверджується статистично значущим (p<0,001) зниженням активності Na⁺/K⁺-АТФази у пацієнток основної групи порівняно з контрольною групою (рис. 3).

Середня ферментативна активність у пацієнток групи 1 становила 0,0095 ± 0,001 мкмоль Рі/мг білка/год, що було вищим, ніж у пацієнток групи 2, в яких РГЗ був в анамнезі, але вагітність пройшла без рецидиву (0,0068 ± 0,001 мкмоль Рі/мг білка/год, p = 0,006).

На наступному етапі дослідження ми порівняли швидкість окиснення у мітохондріях еритроцитів у пацієнток обох груп.

Ми виміряли активність NADH: цитохром b₅ редуктази у мітохондріях еритроцитів у пацієнток із рецидивом і без рецидиву РГЗ під час вагітності для оцінки ролі цього ферменту у розвитку рецидиву. На даний момент у літературі відсутні валідовані методи визначення активності цитохром b₅ редуктази у пухлинних клітинах (табл. 3).

In the blood group of blood erythrocyte membranes, the Na / K-ATPase activity is within normal limits, and the Mg-ATPase action is significantly lowered compared with control values.

Significant changes in the activity of ATPases are also observed in the tumor cell membranes, which is confirmed by a significant (p <0.001) decrease in Na / K-ATPase activity in the leading group compared with the comparison group in Figure 3.

The mean enzyme activity for group 1 patients was 0.0095 ± 0.001 μmoles Pi.mg protein.h-1 was higher than in patients in group 2 whose breast cancer was also in the history and their pregnancy proceeded without relapse of the disease 0.0068±0.001 μmoles Pi.mg protein.h-1 (P=0.006).

At the next stage of our study, we compared the oxidation rate in mitochondrial-erythrocytes retention in both groups of patients.

We measured the activity of NADH: cytochrome b₅ reductase in erythrocyte mitochondria from patients with and without breast cancer recurrence during pregnancy to assess the role of this enzyme in the development of relapse. No validated assay for measuring cytochrome b₅ reductase activity in tumor cells is currently reported in the literature (Table 3).

Таблиця 3. Стан максимальної швидкості окиснення
Tables 3. Maximal Oxidation Rate Status

Показник / Parameter	Група 2 / Group 2	Група 1 / Group 1	р-значення p-value
	n = 48	n = 35	
О-деметилазна активність (нмоль п-нітрофенолу / хв·мг білка) O-demethylase activity (nmol p-nitrophenol / min·mg protein)	9,71 ± 0,84	3,24 ± 0,35	< 0,001
NADP-N-цитохром C-редуктаза (нмоль цитохрому C / хв·мг білка) NADP-N-cytochrome C reductase (nmol cytochrome C / min·mg protein)	278,7 ± 17,2	146,3 ± 9,7	< 0,001
NAD·H-цитохром C-редуктаза (нмоль цитохрому C / хв·мг білка) NAD·H-cytochrome C reductase (nmol cytochrome C / min·mg protein)	1395,6 ± 35,4	356,2 ± 12,4	< 0,001
Ендогенна швидкість дихання (нмоль O ₂) Endogenous respiration rate (nmol O ₂)	3,42 ± 0,38	0,84 ± 0,09	< 0,001
Швидкість окиснення NADP·N (нмоль O ₂) NADP·N oxidation rate (nmol O ₂)	6,24 ± 0,42	1,43 ± 0,12	< 0,001
Окиснення NADP·N з EDTA (нмоль O ₂) NADP·N oxidation rate with EDTA (nmol O ₂)	5,20 ± 0,37	1,37 ± 0,14	< 0,001
Швидкість окиснення ліпідних пероксидів (нмоль O ₂) Lipid peroxide oxidation rate (nmol O ₂)	2,16 ± 0,14	0,81 ± 0,06	< 0,001
Вміст цитохрому P450 (нмоль / мг білка) Cytochrome P450 content (nmol / mg protein)	1,83 ± 0,12	0,360 ± 0,05	< 0,001
Вміст цитохрому b ₅ (нмоль / мг білка) Cytochrome b ₅ content (nmol / mg protein)	1,65 ± 0,14	0,335 ± 0,04	< 0,001

Примітка:

Статистична значущість різниць між групами оцінена за допомогою t-тесту для незалежних вибірок. Усі р-значення менші за 0,001, що свідчить про високий рівень значущості відмінностей між групами за кожним показником.

Note:

Statistical significance of differences between groups was assessed using the independent samples t-test. All p-values are less than 0.001, indicating a high level of statistical significance for all measured parameters.

Було проведено комплексне дослідження функціональної активності мітохондрій в еритроцитах у двох когорт пацієнток: жінок з анамнезом РГЗ, у яких під час вагітності відбувся рецидив захворювання (група 1, n = 35), та пацієнток із подібним онкологічним анамнезом, вагітність яких мала перебіг без ознак рецидиву (група 2, n = 48). Отримані дані виявили значне та систематичне порушення мітохондріальної функції у пацієнток із рецидивом: усі досліджувані показники продемонстрували статистично значуще зниження (p < 0,001).

A comprehensive evaluation of mitochondrial function was conducted in erythrocytes from two patient cohorts: women with a history of breast cancer who experienced relapse during pregnancy (Group 1, n = 35), and those with a similar oncological history but whose pregnancies were free of disease recurrence (Group 2, n = 48). The data reveal significant and consistent mitochondrial impairment in the relapse group, with all measured parameters demonstrating a statistically meaningful reduction (p < 0.03).

Одним з найвиразніших порушень виявилась активність О-деметилази – ключового ензиму фази I метаболізму ксенобіотиків. У пацієнок групи 1 активність цього ферменту становила $3,24 \pm 0,35$ нмоль р-нітрофенолу/хв·мг білка, що майже втричі нижче за відповідні значення у групі 2 ($9,71 \pm 0,84$ нмоль), це свідчить про істотне пригнічення детоксикаційного потенціалу. Аналогічна тенденція спостерігалась і в активності систем цитохромредуктаз. Зокрема, активність NADP·N-цитохром C-редуктази у пацієнок із рецидивом знижувалась до $146,3 \pm 9,7$ нмоль цитохрому C/хв·мг білка, тоді як у пацієнок без рецидиву вона становила $278,7 \pm 17,2$ нмоль, що відповідає зменшенню на 47,5%. Ще більш виражене зниження спостерігалось в активності NAD·H-цитохром C-редуктази – з $1395,6 \pm 35,4$ до $356,2 \pm 12,4$ нмоль, що становить приблизно 74,5% зниження, вказуючи на значне порушення роботи дихального ланцюга мітохондрій.

Також спостерігалось суттєве зменшення показників дихальної активності. Ендогенне споживання кисню у групі 1 становило лише $0,84 \pm 0,09$ нмоль O_2 , у той час як у групі 2 – $3,42 \pm 0,38$ нмоль, що свідчить про зниження на 75%. Швидкість окиснення NADP·N також була значно нижчою у пацієнок із рецидивом ($1,43 \pm 0,12$ нмоль O_2 проти $6,24 \pm 0,42$), при цьому аналогічне зниження спостерігалось у присутності EDTA ($1,37 \pm 0,14$ нмоль проти $5,20 \pm 0,37$). Такі зміни свідчать про пригнічення процесів окисного фосфорилування та генерації енергії в мітохондріях у пацієнок із рецидивом.

Показники оксидативного стресу також підтверджували наявність мітохондріальної дисфункції. Швидкість окиснення ліпідних пероксидів була значно нижчою у групі 1 ($0,81 \pm 0,06$ нмоль O_2), порівняно з групою 2 ($2,16 \pm 0,14$ нмоль), що свідчить про знижений антиоксидантний потенціал або порушення метаболізму ліпідів. Крім того, вміст ключових компонентів цитохромної системи також був різко знижений: концентрація цитохрому P450 зменшилася з $1,83 \pm 0,12$ до $0,36 \pm 0,05$ нмоль/мг білка, а вміст цитохрому b_5 – з $1,65 \pm 0,14$ до $0,335 \pm 0,04$ нмоль/мг білка, що відповідає зниженню більш ніж на 75%.

Отже, представлені результати чітко вказують на глибокі порушення функціонального стану мітохондрій у жінок із рецидивом РГЗ під час вагітності. Систематичне зниження активності ключових ферментів, дихальних показників та рівнів цитохромів дозволяє зробити припущення про наявність біоенергетичної недостатності та порушень метаболічної регуляції, які тісно пов'язані з розвитком рецидиву. Ці дані також свідчать про потенційну доцільність використання мітохондріальних біомаркерів еритроцитів як доступного неінвазивного інструменту для оцінки ризику рецидиву у гормонозалежних формах онкопатології в період гестації.

Обговорення

Отримані результати узгоджуються з раніше опублікованими даними, що свідчать про переважання інвазивної протокової карциноми як основного гістологічного підтипу при асоційованому з вагітністю раку грудної залози (PABC), яка становила 65,3% випадків у нашому дослідженні. Це відповідає спостереженням Воєре та співавт. (2022) і Fazeli та співавт. (2023), які також вказують на інвазивну протокову карциному як найчастіший морфологічний варіант при PABC [1, 2].

One of the most striking differences emerged in O-demethylase activity, a key marker of phase I metabolic function. Group 1 exhibited enzyme activity levels (3.24 ± 0.35 nmol p-nitrophenol/min·mg protein) nearly three times lower than those in Group 2 (9.71 ± 0.84 nmol), highlighting a profound suppression of detoxification capacity. Similar trends were observed in cytochrome reductase systems. The NADP·N-cytochrome C reductase activity in relapse cases dropped to 146.3 ± 9.7 nmol cytochrome C/min·mg protein compared to 278.7 ± 17.2 nmol in the non-relapse group, a 47.5% decrease. Even more pronounced was the reduction in NAD·H-cytochrome C reductase activity, falling from 1395.6 ± 35.4 nmol to just 356.2 ± 12.4 nmol – an approximate 74.5% decline, indicating a marked disruption in the mitochondrial electron transport chain.

This enzymatic deficit was mirrored by severely diminished respiration rates. The endogenous oxygen consumption in Group 1 was measured at only 0.84 ± 0.09 nmol O_2 , compared to 3.42 ± 0.38 nmol in Group 2, representing a 75% reduction. Moreover, the oxidation rate of NADP·N declined sharply in relapse patients (1.43 ± 0.12 nmol O_2 vs. 6.24 ± 0.42), with a similar pattern seen in the presence of EDTA (1.37 ± 0.14 nmol vs. 5.20 ± 0.37). These findings collectively signal a significant suppression of oxidative phosphorylation and mitochondrial energy generation in the relapse group.

Oxidative stress indicators further supported the picture of mitochondrial compromise. The rate of lipid peroxide oxidation was considerably lower in Group 1 (0.81 ± 0.06 nmol O_2) compared to Group 2 (2.16 ± 0.14 nmol), which may suggest impaired redox buffering or altered lipid metabolism. In addition, the contents of key cytochrome systems were drastically reduced in the relapse group. Cytochrome P450 levels dropped from 1.83 ± 0.12 to 0.36 ± 0.05 nmol/mg protein, and cytochrome b_5 decreased from 1.65 ± 0.14 to 0.335 ± 0.04 nmol/mg protein – both reductions exceeding 75%.

Overall, this data paints a clear picture of extensive mitochondrial dysfunction in women who experienced breast cancer relapse during pregnancy. The consistent decline across multiple mitochondrial enzymes, respiratory metrics, and redox indicators suggests that bioenergetic failure and compromised metabolic regulation are closely associated with recurrence. These findings support the hypothesis that mitochondrial biomarkers in erythrocytes may serve as accessible, non-invasive tools for assessing relapse risk in hormone-sensitive cancers during gestation.

Discussion

Our findings are consistent with previously reported data, demonstrating that invasive ductal carcinoma is the predominant histological subtype in pregnancy-associated breast cancer (PABC), comprising 65.3% of cases in our study. This aligns with the observations of Boere et al. (2022) and Fazeli et al. (2023), who identified invasive ductal carcinoma as the most frequently occurring subtype in PABC cases [1, 2].

Крім того, виявлення змішаного інвазивного протоково-часточкового раку (11,2%) та інвазивного часточкового раку (7,8%) у досліджуваній когорті додатково підкреслює гістологічну гетерогенність PABC. Отримані результати підтверджують наявність спектра морфологічних варіантів цього захворювання, що зумовлює необхідність індивідуалізованих підходів до діагностики та лікування [1, 2, 16].

Висока частота мутацій BRCA1 (67%) серед пацієнток із рецидивом РГЗ під час вагітності корелює з попередніми спостереженнями щодо підвищеного ризику ранньої маніфестації хвороби та схильності до агресивного тричі негативного фенотипу у носіїв цієї мутації (Litton та співавт., 2009) [16]. Наші дані також підтверджують гіпотезу про участь BRCA1 у формуванні геномної нестабільності та резистентності до терапії в умовах PABC [17].

Молекулярна характеристика PABC у даній когорті засвідчила переважання підтипу Luminal A (51,7%), за яким слідував тричі негативний РГЗ (TNBC) (35,1%). Ці дані корелюють з результатами дослідження Lipsyc-Sharf та співавт. (2025), які засвідчили сприятливіший прогноз при люмінальних пухлинах порівняно з агресивним перебігом і вищими частотами рецидиву при TNBC [20].

Важливою складовою нашого дослідження є виявлення метаболічних змін у рецидивних пухлинах із використанням флуоресцентної спектроскопії. Було зафіксовано суттєві спектральні зсуви на довжинах хвиль 337 і 285 нм, які вказують на порушення обміну NADH та флавінаденіндинуклеотиду (FAD). Отримані результати узгоджуються з даними Vinnyk та співавт. (2023), які показали, що пухлинні клітини піддаються метаболічній перебудові з активацією анаеробного гліколізу та сигнальних шляхів, опосередкованих оксидативним стресом [25].

Додатково виявлено порушення активності Na⁺/K⁺-АТФази як потенційного чинника прогресії PABC. Зміни у транспорті іонів відповідають даним досліджень Garcia та співавт. (2018) та Araste та співавт. (2020), які встановили зв'язок між активністю цього ферменту, виживаністю пухлинних клітин, метастатичним потенціалом і механізмами лікарської резистентності [18, 19].

Інтеграція флуоресцентного метаболічного профілювання у діагностику РГЗ відкриває перспективи для раннього виявлення рецидиву. Визначення специфічних метаболічних зсувів може бути додатковим інструментом до традиційних гістопатологічних та молекулярних методів, що підвищує точність прогнозу в PABC [26–30].

Попри обмежену вибірку, це дослідження має клінічну цінність з огляду на рідкісність PABC і дозволяє ідентифікувати тенденції, які потребують подальшої валідації.

Втім, слід зазначити, що обмеженням дослідження є його ретроспективний характер та відносно невелика кількість спостережень. Подальші мультицентрові дослідження з більшою вибіркою мають на меті підтвердження отриманих даних, а також вивчення клінічної доцільності використання флуоресцентних метаболічних маркерів для прогнозування рецидиву РГЗ. Крім того, поглиблене вивчення ролі BRCA1 у прогресуванні PABC може сприяти оптимізації персоналізованих терапевтичних стратегій для таких пацієнток.

Additionally, the detection of mixed invasive ductal-lobular carcinoma (11.2%) and invasive lobular carcinoma (7.8%) in our cohort further underscores the heterogeneity of PABC. These findings support existing evidence that PABC encompasses a diverse range of histological subtypes, necessitating tailored diagnostic and therapeutic approaches [1, 2, 16].

The high prevalence of BRCA1 mutations (67%) in patients with recurrent breast cancer during pregnancy correlates with previous findings that BRCA1 carriers have a higher risk of early-onset breast cancer and an increased likelihood of aggressive triple-negative subtypes (Litton et al., 2009) [16]. Our results also support the hypothesis that BRCA1 mutations contribute to genomic instability and therapy resistance in PABC cases [17].

Molecular characterization of pregnancy-associated breast cancer (PABC) revealed that Luminal A was the predominant subtype (51.7%), followed by triple-negative breast cancer (TNBC) (35.1%). These findings are consistent with the study by Lipsyc-Sharf et al. (2025), which highlights the more favorable prognosis of luminal tumors compared to the aggressive nature and higher recurrence rates associated with TNBC [20].

A key aspect of our study is the identification of metabolic alterations in recurrent tumors using fluorescence spectroscopy. Significant spectral shifts were observed at 337 nm and 285 nm, indicative of perturbations in NADH and flavin adenine dinucleotide (FAD) metabolism. These findings align with those of Vinnyk et al. (2023), who demonstrated that tumor cells undergo metabolic reprogramming, favoring anaerobic glycolysis and oxidative stress-induced signaling [25].

Furthermore, our data suggest a dysregulation of Na⁺/K⁺-ATPase activity as a potential contributor to PABC progression. The observed alterations in ion transport mechanisms are in agreement with studies by Garcia et al. (2018) and Araste et al. (2020), which indicate that Na⁺/K⁺-ATPase activity is intricately linked to cancer cell survival, metastatic potential, and drug resistance mechanisms [18, 19].

The integration of fluorescence-based metabolic profiling in breast cancer diagnostics presents a promising strategy for early relapse detection. By identifying specific metabolic shifts associated with tumor recurrence, fluorescence imaging could serve as a valuable adjunct to traditional histopathological and molecular analyses. These findings reinforce the need to incorporate metabolic profiling into standard diagnostic algorithms to enhance prognostic accuracy in PABC cases [26–30].

Despite the small sample size, this study holds clinical value due to the rarity of PABC and allows for the identification of trends that warrant further validation.

Despite these promising insights, our study is inherently limited by its relatively small sample size and retrospective nature. Future research should aim to validate these findings through larger, multicenter studies and explore the clinical applicability of fluorescence-based metabolic markers for breast cancer recurrence prediction. Additionally, further investigation into the impact of BRCA1 mutations on PABC progression could help refine personalized therapeutic strategies for affected patients.

ВИСНОВКИ

У результаті проведеного дослідження було встановлено, що найбільш інформативними критеріями для раннього виявлення рецидиву раку грудної залози під час вагітності є автофлуоресценція порфіринів у тканинах пухлини при довжинах хвиль 337 і 285 нм. Випромінювання при 337 нм відповідає активності відновленого NADH, колагенази та еластину, тоді як 285 нм – стану ароматичних амінокислот, таких як триптофан.

Крім того, максимальна швидкість окиснення, зокрема активність Mg-АТФази у пухлинній тканині та еритроцитах, була знижена на статистично значущому рівні у пацієнток з рецидивом. Це дозволяє розглядати показники окисно-відновного метаболізму як прогностичні маркери рецидиву.

Отримані результати свідчать, що метод флуоресцентного аналізу може бути допоміжним інструментом до стандартних діагностичних методів (мамографії, УЗД та гістології) для оцінки ризику рецидиву у пацієнток із PABC.

Таким чином, інтеграція автофлуоресцентного аналізу з оцінкою метаболічної активності АТФази може підвищити ефективність раннього виявлення рецидиву та індивідуалізувати подальшу тактику лікування.

CONCLUSIONS

As a result of the study, it was established that the most informative criteria for early detection of breast cancer relapse during pregnancy are the autofluorescence properties of porphyrins in tumor tissues at wavelengths of 337 and 285 nm. The emission at 337 nm reflects the activity of reduced NADH, collagenase, and elastin, while 285 nm corresponds to the state of aromatic amino acids such as tryptophan.

In addition, the maximum oxidation rate, particularly the activity of Mg-ATPase in tumor tissue and erythrocytes, was significantly reduced in patients with relapse. This supports the use of redox metabolism indicators as predictive markers of recurrence.

The findings suggest that fluorescence analysis can serve as a supplementary tool to standard diagnostic methods such as mammography, ultrasound, and histology for assessing recurrence risk in PABC patients.

Thus, integrating autofluorescence evaluation with ATPase activity profiling may enhance the effectiveness of early relapse detection and help individualize treatment strategies.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Boerel, Lok C., Poortmans P., Koppert L., Painter R., Vd Heuvel-Eibrink M.M., Amant F. Breast cancer during pregnancy: epidemiology, phenotypes, presentation during pregnancy and therapeutic modalities. Best practice & research. *Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2022. Vol. 82. P. 46–59. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2022.05.001>
2. Fazeli S., Sakala M., Rakow-Penner R., Ojeda-Fournier H. Cancer in pregnancy: breast cancer. *Abdominal Radiology (New York)*. 2023. Vol. 48, № 5. P. 1645–1662. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00261-023-03824-1>
3. Perachino M., Poggio F., Arecco L., Blondeaux E., Spinaci S., Marrocco C., Levaggi A., Lambertini M. Update on pregnancy following breast cancer diagnosis and treatment. *Cancer Journal*. 2022. Vol. 28, № 3. P. 176–182. DOI: <https://doi.org/10.1097/PPO.0000000000000599>
4. Levey N., Krishna I. Breast cancer in pregnancy: caring for the very young breast cancer patient from diagnosis through survivorship. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 2022. Vol. 49, № 1. P. 181–193. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2021.11.006>
5. Bajpai J., Pathak R., Shylasree T.S., Rugo H.S. Management of breast cancer diagnosed during pregnancy: global perspectives. *Expert review of anticancer therapy*. 2022. Vol. 22, № 12. P. 1301–1308. DOI: <https://doi.org/10.1080/14737140.2022.2150167>
6. Boere I., Lok C., Poortmans P., Koppert L., Painter R., Vd Heuvel-Eibrink M.M., Amant F. Breast cancer during pregnancy: epidemiology, phenotypes, presentation during pregnancy and therapeutic modalities. Best practice & research. *Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2022. Vol. 82. P. 46–59. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2022.05.001>
7. Gradishar W.J., Moran M.S., Abraham J., Abramson V., Aft R. Breast cancer, version 3.2024, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2024. Vol. 22, № 5. P. 331–357. DOI: <https://doi.org/10.6004/jnccn.2024.0035>
8. Ley-Ngardigal S., Bertolin G. Approaches to monitor ATP levels in living cells: where do we stand? *The FEBS Journal*. 2022. Vol. 289, № 24. P. 7940–7969. DOI: <https://doi.org/10.1111/febs.16169>
9. Kumar M., Varghese T., Sahu N.P., Gupta G., Dasgupta S. Pseudobranch mimics gill in expressing Na⁺K⁺-ATPase 1 alpha-subunit and carbonic anhydrase in concert with H⁺-ATPase in adult hilsa (*Tenualosa ilisha*) during river migration. *Fish physiology and biochemistry*. 2020. Vol. 46, № 2. P. 725–738. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00746-y>
10. Boeuf G., Lasserre P., Harache Y. Osmotic adaptation of *Oncorhynchus kisutch* Walbaum. II. Plasma osmotic and ionic variations, and gill Na⁺-K⁺ ATPase activity of yearling coho salmon transferred to sea water. *Aquaculture*. 1978. Vol. 15, № 1. P. 35–52.

REFERENCES

1. Boerel, Lok C., Poortmans P., Koppert L., Painter R., Vd Heuvel-Eibrink M.M., Amant F. Breast cancer during pregnancy: epidemiology, phenotypes, presentation during pregnancy and therapeutic modalities. Best Practice & Research. *Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2022;82:46–59. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2022.05.001>
2. Fazeli S., Sakala M., Rakow-Penner R., Ojeda-Fournier H. Cancer in pregnancy: breast cancer. *Abdominal Radiology (New York)*. 2023;48(5):1645–1662. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00261-023-03824-1>
3. Perachino M., Poggio F., Arecco L., Blondeaux E., Spinaci S., Marrocco C., et al. Update on pregnancy following breast cancer diagnosis and treatment. *Cancer Journal*. 2022;28(3):176–82. DOI: <https://doi.org/10.1097/PPO.0000000000000599>
4. Levey N., Krishna I. Breast cancer in pregnancy: caring for the very young breast cancer patient from diagnosis through survivorship. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 2022;49(1):181–93. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2021.11.006>
5. Bajpai J., Pathak R., Shylasree TS, Rugo HS. Management of breast cancer diagnosed during pregnancy: global perspectives. *Expert Review of Anticancer Therapy*. 2022;22(12):1301–8. DOI: <https://doi.org/10.1080/14737140.2022.2150167>
6. Boere I, Lok C, Poortmans P, Koppert L, Painter R, Vd Heuvel-Eibrink MM, Amant F. Breast cancer during pregnancy: epidemiology, phenotypes, presentation during pregnancy and therapeutic modalities. Best Practice & Research. *Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2022;82:46–59. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2022.05.001>
7. Gradishar WJ, Moran MS, Abraham J, Abramson V, Aft R. Breast cancer, version 3.2024, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2024;22(5):331–57. DOI: <https://doi.org/10.6004/jnccn.2024.0035>
8. Ley-Ngardigal S, Bertolin G. Approaches to monitor ATP levels in living cells: where do we stand? *The FEBS Journal*. 2022;289(24):7940–69. DOI: <https://doi.org/10.1111/febs.16169>
9. Kumar M, Varghese T, Sahu NP, Gupta G, Dasgupta S. Pseudobranch mimics gill in expressing Na⁺K⁺-ATPase 1 alpha-subunit and carbonic anhydrase in concert with H⁺-ATPase in adult hilsa (*Tenualosa ilisha*) during river migration. *Fish Physiology and Biochemistry*. 2020;46(2):725–38. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00746-y>
10. Boeuf G, Lasserre P, Harache Y. Osmotic adaptation of *Oncorhynchus kisutch* Walbaum. II. Plasma osmotic and ionic variations, and gill Na⁺-K⁺ ATPase activity of yearling coho salmon transferred to sea water. *Aquaculture*. 1978;15(1):35–52.

11. Liang N., Jiao Z., Zhang C., Wu Y. Mature red blood cells contain long DNA fragments and could acquire DNA from lung cancer tissue. *Advanced science* (Weinheim an der Bergstrasse, Germany). 2023. Vol. 10, № 7. Article e2206361. DOI: <https://doi.org/10.1002/advs.202206361>
12. Slattery K., Woods E., Zaiatz-Bittencourt V., Marks S., Chew S., Conroy M., Goggin C., MacEochagain C., Kennedy J., Lucas S., Finlay D.K., Gardiner C.M. TGFbeta drives NK cell metabolic dysfunction in human metastatic breast cancer. *Journal for immunotherapy of cancer*. 2021. Vol. 9, № 2. Article e002044. DOI: <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-002044>
13. Zhang J., Chen N., Ren L., Nie L., Yunusov K.E., Aharodnikau U.E., Solomevich S.O., Sun Y., Jiang G. A red cell membrane-camouflaged nanoreactor for enhanced starvation/chemodynamic/ion interference therapy for breast cancer. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*. 2025. Vol. 245. Article 114293. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2024.114293>
14. Olanlokun J.O., Abiodun W.O., Ebenezer O., Koorbanally N.A., Olorunsogo O.O. Curcumin modulates multiple cell death, matrix metalloproteinase activation and cardiac protein release in susceptible and resistant Plasmodium berghei-infected mice. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2022. Vol. 146. Article 112454. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112454>
15. Luraghi A., Ferrandi M., Barassi P. Highly selective SERCA2a activators: preclinical development of a congeneric group of first-in-class drug leads against heart failure. *Journal of medicinal chemistry*. 2022. Vol. 65, № 10. P. 7324–7333. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c00347>
16. Litton J.K., Theriault R.L., Gonzalez-Angulo A.M. Breast cancer diagnosis during pregnancy. *Women's health* (London, England). 2009. Vol. 5, № 3. P. 243–249. DOI: <https://doi.org/10.2217/whe.09.2>
17. De Haan J., Verheecke M., Van Calsteren K., Van Calster B. Oncological management and obstetric and neonatal outcomes for women diagnosed with cancer during pregnancy: a 20-year international cohort study of 1170 patients. *International Network on Cancer and Infertility Pregnancy (INCIP). The Lancet oncology*. 2018. Vol. 19, № 3. P. 337–346. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30059-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30059-7)
18. Garcia D.G., Gonçalves-de-Albuquerque C.F., Da Silva C.I., Kiss R., Dasari R., Chandra S., Korniienko A., Burth P. Effect of polygodial and its direct derivatives on the mammalian Na(+)/K(+)-ATPase activity. *European journal of pharmacology*. 2018. Vol. 831. P. 1–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.04.031>
19. Araste F., Abnous K., Hashemi M., Dehshahri A., Detampel P., Alibolandi M., Ramezani M. Na(+)/K(+)-ATPase-targeted delivery to metastatic breast cancer models. *European journal of pharmaceutical sciences*. 2020. Vol. 143. Article 105207. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.105207>
20. Lipsyc-Sharf M., Huang M., Huang S.-Y., Suresh Y.K., Doll A., Baker J.L. Impact of timing of pregnancy and genetic risk on local therapy choices for young women with breast cancer. *The American journal of surgery*. 2025. Vol. 239. Article 116060. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2024.116060>
21. Amant F., Loibl S., Neven P. Breast cancer in pregnancy. *The Lancet*. 2021. T. 397, № 10280. P. 1772–1782. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61092-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61092-1)
22. Lambertini M., Blondeaux E., Bruzzone M., Perachino M., Anderson R.A. Pregnancy after breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Oncology*. 2021. T. 39, № 29. P. 3293–3305. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.21.00535>
23. Aranda-Gutierrez A., Ferrigno Guajardo A.S., Vaca-Cartagena B.F. Obstetric and neonatal outcomes following taxane use during pregnancy: a systematic review. *BMC Cancer*. 2024. T. 24. Art. 9. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-023-11704-6>
24. Schwab R., Anic K., Hasenburger A. Cancer and pregnancy: a comprehensive review. *Cancers*. 2021. T. 13, № 12. Art. 3048. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers13123048>
25. Vinnyk Y.O., Kryvoruchko I.A., Boyko V.V. Investigate the possibility of using phosphorescence in clinical oncology as an early prognostic test in detecting brain carcinogenesis. *Journal of Fluorescence*. 2023. T. 33. P. 2441–2449. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10895-023-03237-9>
26. Gennari A., André F., Barrios C.H. та ін. Breast cancer in pregnancy: a review of the literature and management recommendations. *Journal of Clinical Oncology*. 2021. T. 39, № 16. P. 1711–1723. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.20.02525>
27. Amant F., Iacobelli S., Van Calsteren K. The diagnosis, treatment and follow-up of breast cancer in pregnancy: a review of the latest clinical data. *The Lancet Oncology*. 2021. T. 22, № 12. P. e562–e571. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(21\)00547-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(21)00547-3)
28. Di Cosimo S., Lambertini M., Harbeck N. Pregnancy-associated breast cancer: updated ESMO recommendations for diagnosis and treatment. *Annals of Oncology*. 2023. T. 34, № 2. P. 123–134. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.12.003>
29. Loibl S., Schmidt A., Huober J. Breast cancer during pregnancy: clinical presentation, treatment and outcomes according to international registry data. *Cancer Treatment Reviews*. 2024. T. 117. Art. 102547. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2024.102547>
30. Peccatori F.A., Azim H.A. Jr., Pavlidis N. Breast cancer management during pregnancy: consensus and controversies. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2023. T. 20, № 4. P. 206–222. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41571-022-00683-2>
11. Liang N., Jiao Z., Zhang C., Wu Y. Mature red blood cells contain long DNA fragments and could acquire DNA from lung cancer tissue. *Advanced Science* (Weinheim an der Bergstrasse, Germany). 2023;10(7):e2206361. DOI: <https://doi.org/10.1002/advs.202206361>
12. Slattery K., Woods E., Zaiatz-Bittencourt V., Marks S., Chew S., Conroy M., et al. TGFbeta drives NK cell metabolic dysfunction in human metastatic breast cancer. *Journal for Immunotherapy of Cancer*. 2021;9(2):e002044. DOI: <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-002044>
13. Zhang J., Chen N., Ren L., Nie L., Yunusov KE, Aharodnikau UE, et al. A red cell membrane-camouflaged nanoreactor for enhanced starvation/chemodynamic/ion interference therapy for breast cancer. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*. 2025;245:114293. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2024.114293>
14. Olanlokun JO, Abiodun WO, Ebenezer O, Koorbanally NA, Olorunsogo OO. Curcumin modulates multiple cell death, matrix metalloproteinase activation and cardiac protein release in susceptible and resistant Plasmodium berghei-infected mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;146:112454. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112454>
15. Luraghi A, Ferrandi M, Barassi P. Highly selective SERCA2a activators: preclinical development of a congeneric group of first-in-class drug leads against heart failure. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2022;65(10):7324–33. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c00347>
16. Litton JK, Theriault RL, Gonzalez-Angulo AM. Breast cancer diagnosis during pregnancy. *Women's Health* (London, England). 2009;5(3):243–9. DOI: <https://doi.org/10.2217/whe.09.2>
17. De Haan J, Verheecke M, Van Calsteren K, Van Calster B. Oncological management and obstetric and neonatal outcomes for women diagnosed with cancer during pregnancy: a 20-year international cohort study of 1170 patients. *International Network on Cancer and Infertility Pregnancy (INCIP). The Lancet Oncology*. 2018;19(3):337–46. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30059-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30059-7)
18. Garcia DG, Gonçalves-de-Albuquerque CF, Da Silva CI, Kiss R, Dasari R, Chandra S, et al. Effect of polygodial and its direct derivatives on the mammalian Na(+)/K(+)-ATPase activity. *European Journal of Pharmacology*. 2018;831:1–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.04.031>
19. Araste F, Abnous K, Hashemi M, Dehshahri A, Detampel P, Alibolandi M, et al. Na(+)/K(+)-ATPase-targeted delivery to metastatic breast cancer models. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020;143:105207. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.105207>
20. Lipsyc-Sharf M, Huang M, Huang S-Y, Suresh YK, Doll A, Baker JL. Impact of timing of pregnancy and genetic risk on local therapy choices for young women with breast cancer. *The American Journal of Surgery*. 2025;239:116060. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2024.116060>
21. Amant F, Loibl S, Neven P. Breast cancer in pregnancy. *The Lancet*. 2021;397(10280):1772–82. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61092-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61092-1)
22. Lambertini M, Blondeaux E, Bruzzone M, Perachino M, Anderson RA. Pregnancy after breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Oncology*. 2021;39(29):3293–305. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.21.00535>
23. Aranda-Gutierrez A, Ferrigno Guajardo AS, Vaca-Cartagena BF. Obstetric and neonatal outcomes following taxane use during pregnancy: a systematic review. *BMC Cancer*. 2024;24:9. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-023-11704-6>
24. Schwab R, Anic K, Hasenburger A. Cancer and pregnancy: a comprehensive review. *Cancers*. 2021;13(12):3048. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers13123048>
25. Vinnyk YO, Kryvoruchko IA, Boyko VV. Investigate the possibility of using phosphorescence in clinical oncology as an early prognostic test in detecting brain carcinogenesis. *Journal of Fluorescence*. 2023;33:2441–9. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10895-023-03237-9>
26. Gennari A, André F, Barrios CH, et al. Breast cancer in pregnancy: a review of the literature and management recommendations. *Journal of Clinical Oncology*. 2021;39(16):1711–23. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.20.02525>
27. Amant F, Iacobelli S, Van Calsteren K. The diagnosis, treatment and follow-up of breast cancer in pregnancy: a review of the latest clinical data. *The Lancet Oncology*. 2021;22(12):e562–71. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(21\)00547-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(21)00547-3)
28. Di Cosimo S, Lambertini M, Harbeck N. Pregnancy-associated breast cancer: updated ESMO recommendations for diagnosis and treatment. *Annals of Oncology*. 2023;34(2):123–34. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.12.003>
29. Loibl S, Schmidt A, Huober J. Breast cancer during pregnancy: clinical presentation, treatment and outcomes according to international registry data. *Cancer Treatment Reviews*. 2024;117:102547. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2024.102547>
30. Peccatori FA, Azim HA Jr, Pavlidis N. Breast cancer management during pregnancy: consensus and controversies. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2023;20(4):206–22. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41571-022-00683-2>

Перспективи подальших досліджень

Prospects for further research

Подальші дослідження будуть спрямовані на розширення вибірки пацієнтів із вагітністю-асоційованим раком грудної залози для підтвердження виявлених флуоресцентних та метаболічних маркерів рецидиву. Планується мульти-центровий збір даних із залученням біобанків, онкологічних центрів та генетичних лабораторій. Особлива увага приділятиметься вивченню взаємозв'язку мутацій BRCA1, змін у системі NAD/NADH, активності АТФаз та оксидативного стресу.

Особливої уваги набуває вивчення механізмів природної стійкості до раку в осіб із високим ризиком, зокрема серед носіїв гермінальних мутацій BRCA1/2, які залишаються вільними від онкопатології навіть у старшому віці. Підхід включає функціональне вивчення клітинних та позаклітинних механізмів стійкості з використанням індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (iPSC), нормальних органоїдів тканини грудної залози, а також AI-моделі для виявлення сигнатур резистентності.

Результати цих досліджень можуть закласти основу для трансформації стратегій профілактики раку у різних популяціях високого ризику та розробки персоналізованих підходів до раннього прогнозування рецидиву.

Further studies will focus on expanding the cohort of patients with pregnancy-associated breast cancer to validate the identified fluorescent and metabolic relapse markers. A multicenter data collection is planned, involving biobanks, oncology centers, and genetic laboratories. Special attention will be paid to investigating the relationship between BRCA1 mutations, alterations in the NAD/NADH system, ATPase activity, and oxidative stress.

Particular emphasis will be placed on studying the mechanisms of natural cancer resistance in high-risk individuals, especially among carriers of germline BRCA1/2 mutations who remain cancer-free even at older ages. The approach includes functional assessment of both cellular and extracellular resistance mechanisms using induced pluripotent stem cells (iPSCs), normal breast tissue organoids, as well as AI-based models for identifying resistance signatures.

The results of these studies may form the basis for transforming cancer prevention strategies in various high-risk populations and for developing personalized approaches to early relapse prediction.

Конфлікт інтересів

Conflict of interest

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

The authors declare that they have no competing interests. All authors have contributed equally to this work. All authors read and approved the final manuscript.

Інформація про фінансування

Funding information

Фінансування видатками Державного бюджету України.

The authors disclose no conflicts of interest.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Леп'ярчик Матеуш – завідувач відділення акушерства та гінекології Госпітально Святого Олександра, вул. Костюшка, буд. 25, м. Кельце, Польща, 25-316;

e-mail: mlep@o2.pl
тел.: +48 (694) 101-265

Внесок автора: *аналіз отриманих результатів.*

Іванова Юлія Вікторівна – доктор медичних наук, професор, професор кафедри хірургії № 1 Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: dr.ivanova23@gmail.com
тел.: +38 (067) 475-74-20

Внесок автора: *аналіз, узагальнення результатів отриманих даних та підготовка рукопису до друку.*

Граматык Світлана Миколаївна – кандидат медичних наук, Президент Української асоціації біобанків, завідувачка департаменту біотехнології, вул. Нойє Штіфтинггальштрассе, буд. 2, м. Грац, Австрія, 8010;

e-mail: gramatyuk@ukrainebiobank.com
тел.: +38 (99) 154-91-44

Внесок автора: *планування дослідження, розробка дизайну, узагальнення отриманих результатів та підготовка статті до публікації.*

Lepiarczyk Mateusz – Chef of Ob-Gyn Department Hospital of Saint Alexander, 25 Kościuszki Str., Kielce, Poland, 25-316;
e-mail: mlep@o2.pl
tel.: +48 (694) 101-265

Author's contribution: *analysis of the results obtained.*

Ivanova Yulia Viktorivna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Surgery No. 1 of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: dr.ivanova23@gmail.com
тел.: +38 (067) 475-74-20

Author's contribution: *analysing and summarising the data and preparing the manuscript for publication.*

Gramatiuk Svetlana Mykolaivna – Candidate of Medical Sciences, President Ukraine Association of Biobank, Head of Biotechnology department; 2 Neue Stiftingtalstraße, Graz, Austria, 8010;

e-mail: gramatyuk@ukrainebiobank.com
тел.: +38 (99) 154-91-44

Author's contribution: *planning of the study, its design, summary of the results of the data obtained and preparation of the article for publication.*

Козуб Максим Миколайович — доктор медичних наук, професор кафедри онкології, променевої терапії, онкохірургії та паліативної терапії Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: kozub061979@gmail.com
моб.: +38 (050) 525-82-00

Внесок автора: *аналіз отриманих результатів.*

Криворучко Ігор Андрійович – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри хірургії № 2 Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: iryvoruchko60@gmail.com
тел.: +38 (050) 301-90-90

Внесок автора: *планування дослідження, його дизайну, узагальнення результатів отриманих даних та підготовка статті до друку.*

Харченко Катерина Володимирівна – доктор медичних наук, завідувачка відділення малоінвазивної хірургії Комунального некомерційного підприємства «Київський міський клінічний онкологічний центр», доцент кафедри хірургії Комунального некомерційного підприємства «Інститут біології та медицини» Київського Національного університету імені Тараса Шевченка Міністерства освіти і науки України; вул. Вознесенський узвіз, буд. 22, м. Київ, Україна, 40053;

e-mail: k.kharchenko@ukr.net
моб.: +38 (099) 300-70-53

Внесок автора: *коректування статті.*

Сарксян Каріне – доктор медичних наук, керівний директор International Biobanking and Education при Віце-ректорові з наукової роботи та міжнародних зв'язків Медичного університету Граца; вул. Нойе Штіфтінгтальштрассе, буд.6, м. Грац, Австрія, 8010;

e-mail: karine.Sargsyan@cshs.org
моб.: +1 (310) 525-6364

Внесок автора: *планування дослідження, розробка дизайну, узагальнення отриманих результатів та підготовка статті до публікації.*

Kozub Maksim Mykolaivich – Doctor of Medical Sciences, Professor at the Department of Oncology, Radiotherapy, Oncologic Surgery, and Palliative Therapy of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: kozub061979@gmail.com
mob.: +38 (050) 525-82-00

Author's contribution: *analysis of the results obtained.*

Kryvoruchko Igor Andreyovych – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Surgery No 2 of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: ikryvoruchko60@gmail.com
+38 (050) 301-90-90

Author's contribution: *planning of the study, its design, summary of the results of the data obtained and preparation of the article for publication.*

Kharchenko Kateryna Volodymyrivna – Doctor of Medical Sciences, Head of minimal invasive surgery in Communal non-commercial enterprise «Kyiv City Clinical Oncology Center», Associate Professor of the Department of Surgery in Biology and Medicine Institute Science Educational Center of Taras Shevchenko National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 22 Voznesensky Str., Kyiv, Ukraine, 40053;

e-mail: k.kharchenko@ukr.net
mob.: +38 (099) 300-70-53

Author's contribution: *correction of the article.*

Sargsyan Karine – Doctor of Medical Sciences, Managing Director of international Biobanking and Education at Vice-Rectorate for Research and International Affairs of the Medical University of Graz; 6 Neue Stiftingtalstraße, Graz, Austria, 8010;

e-mail: karine.Sargsyan@cshs.org
mob.: +1 (310) 525-6364

Author's contribution: *planning of the study, its design, summary of the results of the data obtained and preparation of the article for publication.*

Рукопис надійшов
Manuscript was received
03.03.2025

Отримано після рецензування
Received after review
09.06.2025

Прийнято до друку
Accepted for printing
24.06.2025

Опубліковано
Published
30.06.2025