

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta Tese
será disponibilizado somente a partir
de 03/07/2026.

**CARACTERIZAÇÃO DE RNAs LONGOS NÃO
CODIFICANTES EM ORGANOIDES DERIVADOS DE
CARCINOMA SEROSO DE OVÁRIO**

NAIADE CALANCA

BOTUCATU - SP

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**CARACTERIZAÇÃO DE RNAs LONGOS NÃO
CODIFICANTES EM ORGANOIDES DERIVADOS DE
CARCINOMA SEROSO DE OVÁRIO**

Candidata: Naiade Calanca

Orientadora: Profa. Titular Dra. Silvia Regina Rogatto

Coorientadora: Profa. Dra. Cláudia Aparecida Rainho

Tese apresentada ao Instituto de Biociências,
Campus de Botucatu, UNESP, como parte dos
pré-requisitos necessários para obtenção do
título de Doutor junto ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biológicas
(Genética).

BOTUCATU – SP

2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Calanca, Naiade.

Caracterização de RNAs longos não codificantes em organoides derivados de carcinoma seroso de ovário / Naiade Calanca. - Botucatu, 2024

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: Silvia Regina Rogatto

Coorientador: Cláudia Aparecida Rainho

Capes: 20205007

1. Perfilação da expressão gênica. 2. Carcinomas. 3. Ovário - Tumores. 4. Células Organelas. 5. RNA Longo não codificante. 6. Resistencia a medicamentos antineoplásicos.

Palavras-chave: Análise transcriptômica; Carcinoma seroso de ovário; Organoides derivados de tumor; RNAs longos não codificantes; Resistência à quimioterapia.

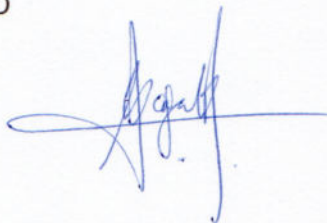
ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE NIAIDE CALANCA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (GENÉTICA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 03 dias do mês de julho do ano de 2024, às 13:30 horas, no(a) Sala da Superintendência do HC-FMB-UNESP, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de NIAIDE CALANCA, intitulada **Caracterização de RNAs longos não codificantes em organoides derivados de carcinoma seroso de ovário**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. SILVIA REGINA ROGATTO (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Núcleo de Laboratórios de Análises Clínicas / Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP, Profa. Dra. NADIA APARECIDA BERGAMO (Participação Virtual) do(a) Centro de Genética Humana / Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Goiás, Prof. Dr. ROBSON FRANCISCO CARVALHO (Participação Virtual) do(a) Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP, Profa. Dra. FLAVIA KARINA DELELLA (Participação Presencial) do(a) Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP, Research Assistant Associate HELLEN KUASNE (Participação Virtual) do(a) Rosalind and Morris Goodman Cancer Institute / McGill University (Montreal, Canadá). Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Profa. Dra. SILVIA REGINA ROGATTO



Documento assinado digitalmente
SILVIA REGINA ROGATTO
Data: 04/07/2024 10:18:41-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>



Dedicatória

À minha tia e madrinha, Maria Salete Bueno Silveira (*in memoriam*),
e aos meus pais, Eliana Teresinha Bueno Calanca e Mario Moacir Calanca.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por me capacitar para todos os aprendizados e por colocar pessoas generosas no meu caminho para me ensinar.

Agradeço à minha família, especialmente aos meus pais, Eliana Teresinha Bueno Calanca e Mario Moacir Calanca, que me ensinaram a valorizar a educação e me apoiam e motivam em todos os momentos, e às minhas avós, Teresa Marega Bueno e Antonia Gomes Calanca, que foram exemplos de fortaleza e cuidado e intercedem por mim.

Agradeço às minhas orientadoras, Profas. Dras. Silvia Regina Rogatto e Cláudia Aparecida Rainho, pelas oportunidades de crescimento profissional e pessoal, pela confiança e pelos ensinamentos.

Agradeço aos colegas com quem pude trocar experiências e aprender durante meu estágio no grupo da Profa. Silvia no *Lillebaelt University Hospital of Southern Denmark*: Dr. Robson Francisco Carvalho, Dra. Sarah Santiloni Cury, Dra. Luisa Matos do Canto Alvim, Dra. Bianca Troncarelli Flores, Luiza Côrtes e Daniela Bizinelli.

Agradeço aos funcionários do *Department of Clinical Genetics* do *Lillebaelt University Hospital of Southern Denmark* por sua disponibilidade e paciência em ensinar e discutir técnicas que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à equipe do Laboratório de Epigenética, coordenado pela Profa. Cláudia, em especial às minhas companheiras de pós-graduação: Dra. Barbara Mitsuyasu Barbosa, Fernanda Aparecida dos Santos France, Debora Kazumi Maeda e Mai Ono, por dividirem conhecimentos, caronas e comidas. A companhia de vocês trouxe alegria e conforto, no contexto acadêmico ou fora dele, a muitos dos momentos vividos no doutorado que vou recordar com carinho. Desejo a vocês muita felicidade e sucesso em todos os seus projetos.

Agradeço a todos os funcionários, docentes e alunos do Setor de Genética do Departamento de Ciências Químicas e Biológicas do Instituto de Biociências de Botucatu (UNESP).

Agradeço aos membros da banca que aceitaram participar do meu Exame Geral de Qualificação e da minha Defesa de Tese de Doutorado: Prof. Dr. Ivan de Godoy Maia, Prof. Dr. Luiz Gustavo de Almeida Chuffa, Dra. Priscila Daniele Ramos Cirilo, Profa. Dra. Nádia Aparecida Bérghamo, Prof. Dr. Robson Francisco Carvalho, Profa. Dra. Flávia Karina Delella e Dra. Hellen Kuasne.

Agradeço às minhas amigas por torcerem e vibrarem por mim, em especial a Eliandra Nunes da Silva e Fernanda Ferrucci Tegon, pelo encorajamento e companheirismo. Não tenho irmãs biológicas, mas pude conhecer o sentimento de irmandade por meio das “amigas de fé, irmãs camaradas” que fazem parte da minha caminhada.

Agradeço às pacientes que aceitaram participar deste estudo.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado concedida no país (processo n.º 88887.482665/2020-00) e de doutorado sanduíche no exterior (processo n.º 88887.570391/2020-00). Agradeço também ao *Region of Southern Denmark Research Fund* (J.nr.: 20/14277), Dinamarca, que financiou integralmente os ensaios metodológicos deste estudo.

Epígrafe

*“The highest education is that which does not merely give us information but makes
our life in harmony with all existence.”*

*“A educação mais elevada é aquela que não apenas nos dá informação, mas que
coloca a nossa vida em harmonia com toda a existência.”*

— Rabindranath Tagore

(tradução livre)

Resumo

INTRODUÇÃO O carcinoma seroso de ovário (SOC) é o subtipo mais comum de câncer de ovário (OC) e uma das principais causas de morte entre os tumores ginecológicos. A sua natureza assintomática leva ao diagnóstico em estágios avançados (~75% dos casos), o que resulta em um prognóstico desfavorável. Inicialmente, as pacientes respondem à quimioterapia, contudo estima-se que 80% dos tumores avançados recidivem. Os RNAs longos não codificantes (lncRNAs) têm sido implicados na progressão e na resposta à terapia de vários tumores, incluindo o OC. **OBJETIVOS** Caracterizar a expressão de lncRNAs e investigar seu envolvimento na resposta à carboplatina em linhagens celulares de OC e organoides derivados de SOC; e buscar alvos acionáveis por drogas epigenéticas (*epi-drugs*) que possam interferir na resposta à quimioterapia. **MÉTODOS E PACIENTES** Os organoides derivados de tumor (TDOs) foram estabelecidos a partir de amostras de efusões malignas (efusão pleural ou ascite) coletadas de 15 pacientes com SOC submetidas a diferentes regimes terapêuticos. Dados de RNA-Seq dos TDOs, de sete amostras de tecido ovariano normal e de linhagens de OC sensíveis e resistentes à carboplatina foram obtidos e analisados. Estes dados foram comparados com dados externos de RNA-Seq de organoides derivados de SOC, de amostras de SOC (*The Cancer Genome Atlas*) e de tecido ovariano normal (*The Genotype-Tissue Expression*). Bancos de dados públicos foram consultados para filtrar genes diferencialmente expressos envolvidos com a regulação epigenética e prever interações entre seus produtos. lncRNAs potencialmente envolvidos com a maquinaria epigenética foram investigados e selecionados para ensaios funcionais utilizando as linhagens celulares de OC resistentes à carboplatina. **RESULTADOS** Identificamos lncRNAs, incluindo *SNHG12* e *MEG3*, e genes codificadores de proteínas potencialmente envolvidos na regulação epigenética diferencialmente expressos nas linhagens e nos TDOs. A expressão anormal desses lncRNAs foi confirmada nos conjuntos de dados externos. Nas linhagens resistentes, o aumento da resposta à carboplatina foi verificado após o silenciamento de *SNHG12*. Além disso, após o tratamento com a *epi-drug* decitabina, sozinha ou em combinação com tazemetostate, as linhagens celulares e o TDO testados mostraram maior sensibilidade à carboplatina e aumento dos níveis de expressão de *MEG3* nas linhagens celulares. **CONCLUSÃO** Identificamos lncRNAs desregulados no SOC que são capazes de interagir com efetores epigenéticos e são alvos promissores para reverter a quimiorresistência.

Abstract

BACKGROUND Serous ovarian carcinoma (SOC) is the most common subtype of ovarian cancer (OC) and one of the leading causes of death among gynecological tumors. Its asymptomatic nature leads to diagnosis at advanced stages (~75% of cases), which results in a poor prognosis. Although patients are initially responsive to chemotherapy, it is estimated that 80% of advanced-stage tumors will recur. Long noncoding RNAs (lncRNAs) have been implicated in progression and response to therapy in several tumor types, including OC.

OBJECTIVES To characterize the expression of lncRNAs, investigate their involvement with carboplatin response in OC cell lines and SOC-derived organoids, and search for targets actionable by epigenetic drugs (epi-drugs) that may interfere with SOC response to chemotherapy.

METHODS AND PATIENTS Tumor-derived organoids (TDOs) were established from malignant effusions (pleural effusion and ascites) of 15 patients with SOC undergoing different therapeutic regimens. RNA-Seq data from TDOs, seven normal ovarian tissue samples, and carboplatin-resistant and -sensitive cell lines were obtained and analyzed. The data was compared with external RNA-Seq data from SOC-derived organoids, SOC samples (The Cancer Genome Atlas), and normal ovarian tissue samples (The Genotype Tissue Expression). Public databases were used to filter differentially expressed genes involved in epigenetic regulation and predict interactions between gene products. LncRNAs potentially interacting with the epigenetic machinery were investigated and selected for functional assays using carboplatin-resistant OC cell lines.

RESULTS We identified lncRNAs, including *SNHG12* and *MEG3*, and protein-coding genes involved in epigenetic regulation differentially expressed in the cell lines and TDOs. The abnormal expression of these lncRNAs was confirmed with the external datasets. In resistant cell lines, increased response to carboplatin was observed following *SNHG12* knockdown. Furthermore, after treatment with the epi-drug decitabine, alone or in combination with tazemetostat, the cell lines and one TDO demonstrated enhanced sensitivity to carboplatin, and increased *MEG3* expression in cell lines.

CONCLUSION We identified dysregulated lncRNAs in SOC that can interact with epigenetic effectors and are promising targets for overcoming chemoresistance.

Listas de abreviaturas e siglas

2D	Bidimensional
3D	Tridimensional
ANRASSF1	Antisense noncoding RASSF1
BRCA1	BRCA1 DNA repair-associated
CA125	Cancer antigen 125
CCAT1-L	Colon cancer associated transcript-1- long isoform
CERNA2	Competing endogenous lncrna 2 for microRNA let-7b
ceRNAs	RNAs competidores endógenos
CLIP-seq	Crosslinking Immunoprecipitation and High-throughput Sequencing
CRISPR/Cas	Clustered regulatory interspaced short palindromic repeats/ CRISPR-associated
CTCF	CCCTC-binding factor
DFS	Sobrevida livre de doença
EOC	Câncer epitelial de ovário
Epi-drugs	Drogas epigenéticas
EZH2	Enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit
FIGO	Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia
GADD45A	Growth arrest and DNA damage-inducible alpha
GASK1B	Golgi associated kinase 1B
GEO	Gene Expression Omnibus
H19	H19 imprinted maternally expressed transcript
HDAC9	Histone deacetylase 9
HGSOC	High-Grade Serous Ovarian Cancer
HOTAIR	HOX transcript antisense RNA
IL6R	Interleukin 6 receptor
ITGA5	Integrin subunit alpha 5
LGSOC	Low-Grade Serous Ovarian Cancer
lncRNAs	RNAs longos não codificantes
MALAT1	Metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1
MEG3	Maternally expressed 3
miRNAs	MicroRNAs
mRNAs	RNAs mensageiros
MUC16	Mucin 16 cell surface associated
ncRNAs	RNAs não codificantes

NEAT1	Nuclear paraspeckle assembly transcript 1
NF-κB	Nuclear factor kappa B
OC	Câncer de ovário
OS	Sobrevida global
PDX	Xenoinxertos derivados de pacientes
PFI	Sobrevida livre de platina
piRNAs	RNAs que interagem com piwi
PLADE	Platinum sensitivity-related lncRNA from ascites-derived exosomes
PRC2	Polycomb Repressive Complex 2
PVT1	Pvt1 oncogene
RASSF1A	RAS-association domain family member 1A
RNA-seq	Sequenciamento de RNA
SCIRT	Stem cell inhibitory RNA transcript
siRNAs	Pequenos RNAs de interferência
SNHG	Small nucleolar RNA host genes
SNHG12	Small nucleolar RNA host gene 12
snoRNAs	Pequenos RNAs nucleolares
snRNAs	Pequenos RNAs nucleares
SOC	Carcinoma seroso de ovário
SOX4	SRY-box transcription factor 4
TARID	TCF21 antisense RNA inducing promoter demethylation
TCF21	Transcription factor 21
TCGA	The Cancer Genome Atlas
TDG	Thymine DNA glycosylase
TDOs	Organoides derivados de tumor
TET	Ten-eleven translocation
TIMP1	Inibidor da metaloproteinase de matriz-1
tRNAs	RNAs transportadores
TUG1	Taurine up-regulated 1
UKCTOCS	UK Collaborative Clinical Trial of Ovarian Cancer Screening
VEGF	Vascular endothelial growth factor
ZFAS1	ZNF1 antisense RNA 1

Sumário

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. O câncer de ovário	12
1.2. Os RNAs longos não codificantes e seu envolvimento no OC	14
1.3. O modelo experimental: organoides derivados de tumor	23
2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE	28
3. OBJETIVOS	29
3.1. Objetivo geral	29
3.2. Objetivos específicos	29
4. CAPÍTULO 1	31
5. CAPÍTULO 2	54
6. CAPÍTULO 3	74
7. PERSPECTIVAS	117
8. CONCLUSÕES	119
9. REFERÊNCIAS	120
10. MATERIAL SUPLEMENTAR	127
11. ANEXO	128

1. Introdução

1.1. O câncer de ovário

O câncer de ovário (OC, do inglês: *Ovarian Cancer*) é um problema de saúde global, tendo acumulado 324.603 novos casos e 206.956 mortes em 2022 ¹. No Brasil, ocorreram 3.920 óbitos por OC em 2020 e são esperados 7.310 novos casos para cada ano do triênio 2023-2025 ². O OC ocupa a oitava posição dentre os tipos de câncer mais incidentes entre mulheres, excluindo-se o câncer de pele não melanoma, no Brasil e no mundo ^{2,3}. Apesar de não ser o tipo de neoplasia ginecológica mais comum, o OC é frequentemente agravado pela associação com a presença de recidiva e quimiorresistência ⁴. O OC é diagnosticado em estágios avançados em aproximadamente 75% dos casos, em parte por ser assintomático ou apresentar sintomas inespecíficos no início da doença, assim como pela propensão a se disseminar na cavidade peritoneal ⁵⁻⁷. Além disso, não há um método de *screening* efetivo que possa ser amplamente adotado para o diagnóstico precoce. Neste contexto, é possível compreender por que o OC corresponde ao segundo tipo de câncer ginecológico mais letal mundialmente, superado apenas pelo câncer de colo uterino ³.

O risco de desenvolver OC é aumentado por fatores genéticos e hereditários conhecidos, como histórico familiar de câncer de mama ou de ovário e mutações germinativas nos genes *BRCA1* (*BRCA1 DNA repair-associated*) e *BRCA2* (3,6% e 3,3% dos casos, respectivamente) ou em outros genes envolvidos na via de reparo por recombinação homóloga ⁸. Entretanto, outros fatores não-hereditários podem influenciar as diferenças geográficas, étnicas e socioeconômicas observadas na incidência da doença ⁸. A taxa de incidência no Reino Unido é uma das maiores registradas ¹. Na Inglaterra, aproximadamente 35% das mulheres diagnosticadas sobrevivem 10 anos ou mais ⁹. No entanto, quase metade dos casos de OC é detectada nos estágios III e IV ¹⁰. No estágio mais avançado, a taxa de sobrevida em cinco anos

cai para 16%, em oposição à taxa de 94,5% quando o diagnóstico é feito no estágio I ¹⁰. O estudo clínico UKCTOCS (do inglês: *UK Collaborative Clinical Trial of Ovarian Cancer Screening*), o mais recente e abrangente até o momento, incluiu 202.638 mulheres britânicas não pertencentes ao grupo com risco elevado para desenvolver OC familiar ¹¹. Entre essas participantes, foi avaliada a influência de duas estratégias de *screening* anual sobre a mortalidade decorrente de OC, tubas uterinas ou peritônio. As lesões malignas nesses três sítios primários pouco diferem umas das outras quanto à apresentação e ao tratamento e são agrupadas sob os mesmos critérios de classificação ¹¹. Um grupo de mulheres foi submetido apenas à ultrassonografia transvaginal, enquanto no outro foi aplicada uma abordagem multimodal, constituída por acompanhamento de variações nos níveis séricos do biomarcador CA125 (do inglês: *cancer antigen 125*) ao longo do tempo e por exames de ultrassom como segunda linha. Ao mesmo tempo em que uma maior quantidade de casos foi diagnosticada no estágio I em ambos os grupos comparativamente ao grupo controle, não foi verificada redução significativa na mortalidade ¹¹. O marcador sérico CA125, codificado pelo gene *MUC16* (*mucin 16, cell surface associated*), é utilizado para monitorar as mulheres do grupo de alto risco de OC, assim como a resposta à quimioterapia e o surgimento de recidiva. 80% dos tumores e 50% das pacientes em estágios iniciais do OC expressam níveis aumentados dessa glicoproteína, o que demonstra que sua especificidade e sensibilidade limitam seu uso como biomarcador individual ¹². Dessa forma, é essencial que sejam identificados novos marcadores que complementem as estratégias existentes, possibilitando que o OC seja detectado precocemente, contribuindo para a melhora no prognóstico das pacientes. Contudo, essa busca é dificultada por se tratar de uma doença complexa, caracterizada por heterogeneidade molecular, histológica e clínica ¹³.

O OC não é considerado uma entidade única e pode ser classificado em diferentes subtipos, de acordo com a origem celular (epitélio, estroma do cordão sexual, células germinativas ou tipos celulares mistos) e aspectos histológicos ⁸. O câncer epitelial de ovário

(H3K27me3), promovendo o silenciamento transcricional de *RASSF1A*^{30,31}. Os lncRNAs ainda são capazes de interferir na metilação do DNA em células humanas ao recrutar ou inibir a ação de DNA metiltransferases e desmetilases. Um exemplo é o lncRNA *antisense TARID (TCF21 antisense RNA inducing promoter demethylation)*, que medeia a desmetilação do supressor tumoral *TCF21 (transcription factor 21)*, codificado pela fita *sense* do DNA³². *TARID* se liga ao promotor do seu gene-alvo e recruta a proteína GADD45A (*growth arrest and DNA damage-inducible alpha*), que, por sua vez, atrai a maquinaria de desmetilação do DNA para ativar a transcrição de *TCF21*³². As proteínas da família TET (*ten-eleven translocation*), em especial, são reconhecidas pelo seu papel como desmetilases em mamíferos; elas oxidam a 5-metilcitosina (5mC) em 5-hidroximetilcitosina (5hmC), que é oxidada em 5-formilcitosina (5fC) ou 5-carboxilcitosina (5caC). A maquinaria de reparo por excisão de base promove a substituição de 5fC e 5caC por citosinas não modificadas por meio da excisão desses resíduos pela proteína TDG (*thymine DNA glycosylase*) e do reparo do sítio apirimidínico resultante³³.

8. Conclusões

- A utilização de bancos de dados públicos dedicados a lncRNAs para buscar transcritos desregulados no OC permitiu a identificação de um conjunto de candidatos que interagem com a maquinaria epigenética, como anteriormente sugerido por evidências experimentais e computacionais;
- Com base nos resultados obtidos, verificamos que o lncRNA *SNHG12* contribui para a modulação da resposta à carboplatina nas linhagens celulares de câncer de ovário estudadas;
- Foi possível estabelecer TDOs a partir de amostras de efusões malignas de 15 pacientes com SOC. Nesses modelos experimentais, identificamos a expressão diminuída do lncRNA *MEG3*, que foi confirmada em dados externos derivados de SOC;
- Análises usando bancos de dados permitiram prever a interação de *MEG3* com efetores epigenéticos também diferencialmente expressos nos TDOs. Portanto, *MEG3* está potencialmente implicado na regulação epigenética;
- Após o tratamento de linhagens celulares resistentes à carboplatina com *epi-drugs*, verificamos a resposta ao quimioterápico e o aumento dos níveis de *MEG3*, sugerindo a participação desse lncRNA na resposta ao tratamento dos carcinomas serosos de ovário.

9. Referências

1. Ferlay J *et al.* Global Cancer Observatory: Cancer Today. *International Agency for Research on Cancer* <https://gco.iarc.who.int/today> (2024).
2. Instituto Nacional de Câncer (INCA). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil. <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa> (2023).
3. Bray, F. *et al.* Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* **74**, 229–263 (2024).
4. Matulonis, U. A. *et al.* Ovarian cancer. *Nat Rev Dis Primers* **2**, 16061 (2016).
5. Kubeček, O. *et al.* The pathogenesis, diagnosis, and management of metastatic tumors to the ovary: a comprehensive review. *Clin Exp Metastasis* **34**, 295–307 (2017).
6. Menon, U., Karpinskyj, C. & Gentry-Maharaj, A. Ovarian Cancer Prevention and Screening. *Obstetrics & Gynecology* **131**, 909–927 (2018).
7. Lheureux, S., Gourley, C., Vergote, I. & Oza, A. M. Epithelial ovarian cancer. *The Lancet* **393**, 1240–1253 (2019).
8. Lisio, M. A., Fu, L., Goyeneche, A., Gao, Z. H. & Telleria, C. High-grade serous ovarian cancer: Basic sciences, clinical and therapeutic standpoints. *Int J Mol Sci* **20**, (2019).
9. Cancer Research UK. Ovarian cancer survival. <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics/statistics-by-cancer-type/ovarian-cancer> (2019).
10. NHS England. *Cancer Survival in England, Cancers Diagnosed 2016 to 2020, Followed up to 2021*. <https://digital.nhs.uk/data-and-information/publications/statistical/cancer-survival-in-england> (2023).
11. Henderson, J. T., Webber, E. M. & Sawaya, G. F. Screening for ovarian cancer updated evidence report and systematic review for the US preventive services task force. *JAMA - Journal of the American Medical Association* **319**, 595–606 (2018).
12. Yang, W. L., Lu, Z. & Bast, R. C. The role of biomarkers in the management of epithelial ovarian cancer. *Expert Rev Mol Diagn* **17**, 577–591 (2017).
13. Blagden, S. P. Harnessing Pandemonium: The Clinical Implications of Tumor Heterogeneity in Ovarian Cancer. *Front Oncol* **5**, (2015).

14. Bookman, M. A. *et al.* Evaluation of New Platinum-Based Treatment Regimens in Advanced-Stage Ovarian Cancer: A Phase III Trial of the Gynecologic Cancer InterGroup. *Journal of Clinical Oncology* **27**, 1419–1425 (2009).
15. Katsumata, N. *et al.* Dose-dense paclitaxel once a week in combination with carboplatin every 3 weeks for advanced ovarian cancer: a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *The Lancet* **374**, 1331–1338 (2009).
16. Gupta, S., Nag, S., Aggarwal, S., Rauthan, A. & Warriar, N. Maintenance therapy for recurrent epithelial ovarian cancer: Current therapies and future perspectives - A review. *J Ovarian Res* **12**, 1–15 (2019).
17. Rojas, V., Hirshfield, K., Ganesan, S. & Rodriguez-Rodriguez, L. Molecular Characterization of Epithelial Ovarian Cancer: Implications for Diagnosis and Treatment. *Int J Mol Sci* **17**, 2113 (2016).
18. Dunham, I. *et al.* An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* **489**, 57–74 (2012).
19. Malgundkar, S. H. & Tamimi, Y. The pivotal role of long non-coding RNAs as potential biomarkers and modulators of chemoresistance in ovarian cancer (OC). *Hum Genet* **143**, 107–124 (2024).
20. Kaikkonen, M. U., Lam, M. T. Y. & Glass, C. K. Non-coding RNAs as regulators of gene expression and epigenetics. *Cardiovasc Res* **90**, 430–40 (2011).
21. Hu, Z., Yuan, L., Yang, X., Yi, C. & Lu, J. The roles of long non-coding RNAs in ovarian cancer: from functions to therapeutic implications. *Front Oncol* **14**, 1332528 (2024).
22. Quinn, J. J. & Chang, H. Y. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function. *Nat Rev Genet* **17**, 47–62 (2016).
23. Iyer, M. K. *et al.* The landscape of long noncoding RNAs in the human transcriptome. *Nat Genet* **47**, 199–208 (2015).
24. Djebali, S. *et al.* Landscape of transcription in human cells. *Nature* **489**, 101–8 (2012).
25. Wang, K. C. & Chang, H. Y. Molecular Mechanisms of Long Noncoding RNAs. *Mol Cell* **43**, 904–914 (2011).
26. Ramón y Cajal, S., Segura, M. F. & Hümmer, S. Interplay Between ncRNAs and Cellular Communication: A Proposal for Understanding Cell-Specific Signaling Pathways. *Front Genet* **10**, 1–11 (2019).
27. Statello, L., Guo, C.-J., Chen, L.-L. & Huarte, M. Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* **22**, 96–118 (2021).

28. Mattick, J. S. *et al.* Long non-coding RNAs: definitions, functions, challenges and recommendations. *Nat Rev Mol Cell Biol* **24**, 430–447 (2023).
29. Xiang, J. F. *et al.* Human colorectal cancer-specific CCAT1-L lncRNA regulates long-range chromatin interactions at the MYC locus. *Cell Res* **24**, 513–531 (2014).
30. Beckedorff, F. C. *et al.* The Intronic Long Noncoding RNA ANRASSF1 Recruits PRC2 to the RASSF1A Promoter, Reducing the Expression of RASSF1A and Increasing Cell Proliferation. *PLoS Genet* **9**, e1003705 (2013).
31. Simon, J. A. & Lange, C. A. Roles of the EZH2 histone methyltransferase in cancer epigenetics. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **647**, 21–29 (2008).
32. Arab, K. *et al.* Long noncoding RNA TARID directs demethylation and activation of the tumor suppressor TCF21 via GADD45A. *Mol Cell* **55**, 604–614 (2014).
33. Wu, X. & Zhang, Y. TET-mediated active DNA demethylation: Mechanism, function and beyond. *Nat Rev Genet* **18**, 517–534 (2017).
34. Bhan, A. & Mandal, S. S. LncRNA HOTAIR: A master regulator of chromatin dynamics and cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* **1856**, 151–164 (2015).
35. Qu, X., Alsager, S., Zhuo, Y. & Shan, B. HOX transcript antisense RNA (HOTAIR) in cancer. *Cancer Lett* **454**, 90–97 (2019).
36. Qiu, J. J. *et al.* Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts poor patient prognosis and promotes tumor metastasis in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* **134**, 121–128 (2014).
37. Qiu, J. jun *et al.* The long non-coding RNA HOTAIR promotes the proliferation of serous ovarian cancer cells through the regulation of cell cycle arrest and apoptosis. *Exp Cell Res* **333**, 238–248 (2015).
38. Wang, H. *et al.* LncRNAs expression profiling in normal ovary, benign ovarian cyst and malignant epithelial ovarian cancer. *Sci Rep* **6**, 38983 (2016).
39. Li, Q. *et al.* LncRNAs are novel biomarkers for differentiating between cisplatin-resistant and cisplatin-sensitive ovarian cancer. *Oncol Lett* **15**, 8363–8370 (2018).
40. Lou, Y. *et al.* Gene microarray analysis of lncRNA and mRNA expression profiles in patients with high-grade ovarian serous cancer. *Int J Mol Med* **42**, 91–104 (2018).
41. Fang, L., Wang, H. & Li, P. Systematic analysis reveals a lncRNA-mRNA co-expression network associated with platinum resistance in high-grade serous ovarian cancer. *Invest New Drugs* **36**, 187–194 (2018).

42. Zhu, Y. *et al.* A Platinum Resistance-Related lncRNA Signature for Risk Classification and Prognosis Prediction in Patients with Serous Ovarian Cancer. *J Oncol* **2022**, 1–14 (2022).
43. Song, J. *et al.* A panel of 7 prognosis-related long non-coding RNAs to improve platinum-based chemoresistance prediction in ovarian cancer. *Int J Oncol* **53**, 866–876 (2018).
44. Liu, R. *et al.* Long noncoding RNA expression signature to predict platinum-based chemotherapeutic sensitivity of ovarian cancer patients. *Sci Rep* **7**, 1–10 (2017).
45. Wang, L., Hu, Y., Xiang, X., Qu, K. & Teng, Y. Identification of long non-coding RNA signature for paclitaxel-resistant patients with advanced ovarian cancer. *Oncotarget* **8**, 64191–64202 (2017).
46. Xu, L. *et al.* Cox-LASSO Analysis Reveals a Ten-lncRNA Signature to Predict Outcomes in Patients with High-Grade Serous Ovarian Cancer. *DNA Cell Biol* **38**, 1519–1528 (2019).
47. Abildgaard, C., Do Canto, L. M., Steffensen, K. D. & Rogatto, S. R. Long Non-coding RNAs Involved in Resistance to Chemotherapy in Ovarian Cancer. *Front Oncol* **9**, 1–17 (2020).
48. Zhang, C. *et al.* Prognostic and clinical significance of long non-coding RNA SNHG12 expression in various cancers. *Bioengineered* **11**, 1112–1123 (2020).
49. Abildgaard, C. *et al.* The Long Non-Coding RNA SNHG12 as a Mediator of Carboplatin Resistance in Ovarian Cancer via Epigenetic Mechanisms. *Cancers (Basel)* **14**, 1664 (2022).
50. Liu, E., Liu, Z., Zhou, Y., Mi, R. & Wang, D. Overexpression of long non-coding RNA PVT1 in ovarian cancer cells promotes cisplatin resistance by regulating apoptotic pathways. *Int J Clin Exp Med* **8**, 20565–72 (2015).
51. Blagden, S., Abdel Mouti, M. & Chettle, J. Ancient and modern: hints of a core post-transcriptional network driving chemotherapy resistance in ovarian cancer. *WIREs RNA* **9**, e1432 (2018).
52. Özeş, A. R. *et al.* NF- κ B-HOTAIR axis links DNA damage response, chemoresistance and cellular senescence in ovarian cancer. *Oncogene* **35**, 5350–5361 (2016).
53. Liu, E., Liu, Z. & Zhou, Y. Carboplatin-docetaxel-induced activity against ovarian cancer is dependent on up-regulated lncRNA PVT1. *Int J Clin Exp Pathol* **8**, 3803–10 (2015).

54. Salamini-Montemurri, M. *et al.* Identification of lncRNAs Deregulated in Epithelial Ovarian Cancer Based on a Gene Expression Profiling Meta-Analysis. *Int J Mol Sci* **24**, 10798 (2023).
55. Wang, L., Yu, M. & Zhao, S. lncRNA MEG3 modified epithelial-mesenchymal transition of ovarian cancer cells by sponging miR-219a-5p and regulating EGFR. *J Cell Biochem* **120**, 17709–17722 (2019).
56. Xiu, Y. *et al.* Upregulation of the lncRNA Meg3 induces autophagy to inhibit tumorigenesis and progression of epithelial ovarian carcinoma by regulating activity of ATG3. *Oncotarget* **8**, 31714–31725 (2017).
57. El-Khazragy, N. *et al.* Tissue-based long non-coding RNAs “PVT1, TUG1 and MEG3” signature predicts Cisplatin resistance in ovarian Cancer. *Genomics* **112**, 4640–4646 (2020).
58. Adriaens, C. *et al.* P53 induces formation of NEAT1 lncRNA-containing paraspeckles that modulate replication stress response and chemosensitivity. *Nat Med* **22**, 861–868 (2016).
59. Wang, Y. *et al.* HOTAIR is a potential target for the treatment of cisplatin-resistant ovarian cancer. *Mol Med Rep* **12**, 2211–6 (2015).
60. Liu, H. *et al.* Ascites exosomal lncRNA PLADE enhances platinum sensitivity by inducing R-loops in ovarian cancer. *Oncogene* **43**, 714–728 (2024).
61. Katt, M. E., Placone, A. L., Wong, A. D., Xu, Z. S. & Searson, P. C. In Vitro Tumor Models: Advantages, Disadvantages, Variables, and Selecting the Right Platform. *Front Bioeng Biotechnol* **4**, 12 (2016).
62. Sisman, Y., Schnack, T., Høgdall, E. & Høgdall, C. Organoids and epithelial ovarian cancer - a future tool for personalized treatment decisions? *Mol Clin Oncol* **16**, 29 (2021).
63. Porter, R. J., Murray, G. I. & McLean, M. H. Current concepts in tumour-derived organoids. *Br J Cancer* **123**, 1209–1218 (2020).
64. Costa, E. C. *et al.* 3D tumor spheroids: an overview on the tools and techniques used for their analysis. *Biotechnol Adv* **34**, 1427–1441 (2016).
65. Driehuis, E., Kretschmar, K. & Clevers, H. Establishment of patient-derived cancer organoids for drug-screening applications. *Nat Protoc* **15**, 3380–3409 (2020).
66. Porcel, J. M., Esquerda, A., Vives, M. & Bielsa, S. Etiology of Pleural Effusions: Analysis of More Than 3,000 Consecutive Thoracenteses. *Archivos de Bronconeumologia (English Edition)* **50**, 161–165 (2014).

67. Ayantunde, A. A. & Parsons, S. L. Pattern and prognostic factors in patients with malignant ascites: A retrospective study. *Annals of Oncology* **18**, 945–949 (2007).
68. Ford, C. E., Werner, B., Hacker, N. F. & Warton, K. The untapped potential of ascites in ovarian cancer research and treatment. *Br J Cancer* **123**, 9–16 (2020).
69. Huang, H. *et al.* Clinical significance of ascites in epithelial ovarian cancer. *Neoplasma* **60**, 546–552 (2013).
70. Porcel, J. M., Diaz, J. P. & Chi, D. S. Clinical implications of pleural effusions in ovarian cancer. *Respirology* **17**, 1060–7 (2012).
71. Escayola, C., Ferron, G., Romeo, M., Torrent, J. J. & Querleu, D. The impact of pleural disease on the management of advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol* **138**, 216–220 (2015).
72. Sorolla, M. A., Sorolla, A., Parisi, E., Salud, A. & Porcel, J. M. Diving into the Pleural Fluid: Liquid Biopsy for Metastatic Malignant Pleural Effusions. *Cancers (Basel)* **13**, 2798 (2021).
73. Geng, Z., Pan, X., Xu, J. & Jia, X. Friend and foe: the regulation network of ascites components in ovarian cancer progression. *J Cell Commun Signal* **17**, 391–407 (2023).
74. Jabs, J. *et al.* Screening drug effects in patient-derived cancer cells links organoid responses to genome alterations. *Mol Syst Biol* **13**, (2017).
75. Maenhoudt, N. *et al.* Developing Organoids from Ovarian Cancer as Experimental and Preclinical Models. *Stem Cell Reports* **14**, 717–729 (2020).
76. Senkowski, W. *et al.* A platform for efficient establishment and drug-response profiling of high-grade serous ovarian cancer organoids. *Dev Cell* **58**, 1106-1121.e7 (2023).
77. Qin, T. *et al.* Harnessing preclinical models for the interrogation of ovarian cancer. *J Exp Clin Cancer Res* **41**, 277 (2022).
78. Bi, J. *et al.* Successful patient-derived organoid culture of gynecologic cancers for disease modeling and drug sensitivity testing. *Cancers (Basel)* **13**, (2021).
79. Hill, S. J. *et al.* Prediction of DNA repair inhibitor response in short-term patient-derived ovarian cancer organoids. *Cancer Discov* **8**, 1404–1421 (2018).
80. Li, Z. *et al.* LncBook 2.0: integrating human long non-coding RNAs with multi-omics annotations. *Nucleic Acids Res* **51**, D186–D191 (2023).
81. Zimta, A. A. *et al.* An Emerging Class of Long Non-coding RNA With Oncogenic Role Arises From the snoRNA Host Genes. *Front Oncol* **10**, (2020).
82. Wu, Y. *et al.* Long non-coding RNA SNHG1 stimulates ovarian cancer progression by modulating expression of miR-454 and ZEB1. *Mol Oncol* **15**, 1584–1596 (2021).

83. Qian, M., Ling, W. & Ruan, Z. Long non-coding RNA SNHG12 promotes immune escape of ovarian cancer cells through their crosstalk with M2 macrophages. *Aging* **12**, 17122–17136 (2020).
84. Sun, D. & Fan, X. H. LncRNA SNHG12 accelerates the progression of ovarian cancer via absorbing miRNA-129 to upregulate SOX4. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **23**, 2345–2352 (2019).
85. Lino Cardenas, C. L. *et al.* An HDAC9-MALAT1-BRG1 complex mediates smooth muscle dysfunction in thoracic aortic aneurysm. *Nat Commun* **9**, 1009 (2018).
86. Yang, S. *et al.* Organoids: The current status and biomedical applications. *MedComm (Beijing)* **4**, e274 (2023).
87. Zhou, Y., Zhang, X. & Klibanski, A. MEG3 noncoding RNA: a tumor suppressor. *J Mol Endocrinol* **48**, R45–R53 (2012).
88. Al-Rugeebah, A., Alanazi, M. & Parine, N. R. MEG3: an Oncogenic Long Non-coding RNA in Different Cancers. *Pathology & Oncology Research* **25**, 859–874 (2019).
89. Ganesan, A., Arimondo, P. B., Rots, M. G., Jeronimo, C. & Berdasco, M. The timeline of epigenetic drug discovery: from reality to dreams. *Clin Epigenetics* **11**, 174 (2019).
90. Calanca, N. *et al.* The long non-coding RNA ANRASSF1 in the regulation of alternative protein-coding transcripts RASSF1A and RASSF1C in human breast cancer cells: implications to epigenetic therapy. *Epigenetics* **14**, 741–750 (2019).