

**Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр акушерства,  
гинекологии и перинатологии им.В.И. Кулакова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

**АСАТУРОВА**

**Александра Вячеславовна**

**Гиперпластические изменения и интраэпителиальные  
поражения слизистой оболочки маточной трубы и их  
значение в морфогенезе серозных опухолей яичника**

14.03.02 – патологическая анатомия

**Диссертация**

на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научные консультанты: проф., д.м.н. Н.И. Кондриков

проф., д.м.н., акад. РАН Л.В. Адамян

Москва, 2019

## ОГЛАВЛЕНИЕ

	<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	6
1.	<b>ГЛАВА 1. ПРОБЛЕМЫ ПАТОГЕНЕЗА И ДИАГНОСТИКИ СЕРОЗНОЙ КАРЦИНОМЫ ЯИЧНИКОВ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ (обзор литературы)</b>	18
1.1.	Современные представления об этиологии и патогенезе эпителиальных опухолей	27
1.1.1.	Концепция происхождения серозных опухолей яичника из эпителия маточной трубы	28
1.1.1.1.	Патогенез серозных карцином яичника высокой степени злокачественности	31
1.1.1.2.	Патогенез серозных карцином яичника низкой степени злокачественности, серозных пограничных опухолей и серозных цистадном	39
1.1.2.	Концепция происхождения серозных опухолей яичника из поверхностного эпителия яичника	42
1.1.2.1.	Концепция происхождения серозных карцином яичника высокой степени злокачественности из поверхностного эпителия яичника	45
1.2.	Эпителиальные переходные области	53
1.3.	Современные методы скрининга и диагностики серозных карцином яичников	57
1.3.1.	Традиционные биомаркеры	57
1.3.2.	Комбинированные методы диагностики	59
1.3.3.	Диагностические алгоритмы	59
1.3.4.	Молекулярно-генетические методы	61
1.3.4.1.	Анализ герминогенных мутаций BRCA1 and BRCA2	61
1.3.4.2.	Определение мкРНК в плазме крови	62

1.3.5.	Жидкостная цитология мазков из маточной трубы	68
<b>ГЛАВА 2.</b>	<b>МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	67
2.1.	Клиническая характеристика пациенток, включенных в исследование	72
2.2.	Характеристика маточных труб пациенток, включенных в исследование	79
2.3.	Гистологический и иммуногистохимический методы	81
2.4.	Цитологический и иммуноцитохимический методы	85
2.5.	Молекулярно-генетические методы	87
2.5.1.	Оценка мутаций в генах BRCA1/2	87
2.5.2.	Оценка экспрессии мкРНК	88
2.7.	Статистическая обработка данных	90
<b>ГЛАВА 3.</b>	<b>РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ</b>	91
3.1.	Структура опухолей яичников у пациенток, проходивших лечение в «ФГБУ НМИЦ АГиП им.В.И. Кулакова» Минздрава России в 2011-2016 гг.	91
3.2.	Результаты предоперационного обследования	93
3.3.	Морфологическая, цитологическая, иммуногисто – и цитохимическая характеристика гиперпластических и интраэпителиальных изменений эндосальпинкса маточной трубы у больных с серозными опухолями яичников	98
3.3.1	Гиперпластические изменения эндосальпинкса	98
3.3.2.	Интраэпителиальные поражения слизистой оболочки маточной трубы	110
3.3.2.1.	Интраэпителиальные поражения слизистой оболочки маточной трубы без фенотипического изменения эпителиоцитов	110

3.3.2.1.1.	Алгоритм определения риска развития серозной карциномы высокой степени злокачественности на основании параметрических показателей секреторных клеток слизистой оболочки маточной трубы и возраста пациенток	124
3.3.2.2.	Интраэпителиальные поражения слизистой оболочки маточной трубы с фенотипическими изменениями эпителиоцитов)	134
3.3.2.2.1	Алгоритм диагностики интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы с фенотипическими изменениями (STIC)	148
3.4.	.Определение воспроизводимости диагнозов гиперпластических изменений и интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы	160
3.4.1.	Определение воспроизводимости диагнозов гиперпластических изменений слизистой оболочки маточной трубы	160
3.4.2.	Определение воспроизводимости диагнозов интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы	162
3.4.2.1.	Определение воспроизводимости диагнозов интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы без фенотипических изменений эпителиоцитов	162
3.4.2.2.	Определение воспроизводимости диагнозов интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы с фенотипическими изменениями эпителиоцитов	164

3.5.	Молекулярно-генетические исследования слизистой оболочки маточной трубы и ткани опухоли при серозных опухолях яичника	174
3.5.1.	Мутации в генах BRCA1/2 в образцах серозных карцином яичника высокой степени злокачественности	174
3.5.2.	Молекулярные особенности серозной карциномы яичников высокой степени злокачественности, серозной пограничной цистаденомы, серозной доброкачественной цистаденомы и фимбриального отдела маточных труб по профилю экспрессии мкРНК методом глубокого секвенирования	174
3.6.	Морфологические и иммуногистохимические особенности клеточного состава параовариальной и парафимбриальной переходных зон	183
	Заключение	197
	<b>ВЫВОДЫ</b>	199
	<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	202
	<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>	203

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность проблемы:**

Проблема диагностики и скрининга рака яичников остается одной из наиболее актуальных тем в области онкогинекологии и онкоморфологии в связи с высокой заболеваемостью и смертностью от данного заболевания в России и зарубежом, поздней диагностикой и частой неэффективностью доступных лечебных стратегий. В структуре заболеваемости среди онкологической патологии у женщин рак яичников в США занимает 9, в Европе – 6, в России – 7 место, а среди причин смертности – в США и Европе 5, в России – 1 место [21, 384]. Среди злокачественных образований яичника эпителиальные опухоли (карциномы) составляют 85-95%, при этом на долю серозных карцином яичника высокой степени злокачественности – HGSC (high-grade serous carcinoma) приходится почти 70% опухолей, серозных карцином низкой степени злокачественности – 5%, на другие гистологические типы карцином – 25% [436]. Поэтому изучение клинико-морфологических, молекулярно-биологических и генетических особенностей именно серозных опухолей яичника имеет важное научно-практическое значение. В настоящее время по классификации ВОЗ 2014 г. выделяют два типа серозных карцином – высокой и низкой степени злокачественности, которые являются отдельными нозологиями, имеющими различный патогенез, клиническое течение, гистологические и молекулярно-биологические особенности [257]. Как известно, HGSC диагностируют преимущественно на III-IV стадии заболевания, что не позволяет продлить безрецидивную выживаемость больных и снизить смертность. Поздняя диагностика заболевания обусловлена его длительным бессимптомным течением, отсутствием маркеров ранней диагностики опухоли или их низкой специфичностью. В то же время, единого представления о морфогенезе серозных карцином яичника в настоящее время не существует.

Основные концепции происхождения серозных карцином – из

поверхностного эпителия яичников и эпителия слизистой оболочки маточной трубы. В качестве доказательств первой концепции приводятся, в том числе, данные о том, что при профилактической сальпингоовариоэктомии серозная интраэпителиальная карцинома слизистой оболочки маточной трубы – STIC (serous tubal intraepithelial carcinoma) выявляется чаще, чем неопластические изменения в яичнике у женщин с генетической предрасположенностью (мутации в генах BRCA1/2) [339]; STIC значительно чаще встречается при серозных карциномах высокой степени злокачественности, чем при других гистологических вариантах карцином яичника [357]; установлены значительные различия в длине теломер в клетках STIC и сопутствующей серозной HGSC и, если бы STIC являлась метастазом HGSC, то эпителий в данном поражении имел бы такую же длину теломер [337].

В качестве доказательства второй концепции приводятся следующие данные: принадлежность поверхностного эпителия яичника и Мюллерова эпителия к единой плюрипотентной целомической области; возможность метаплазии поверхностного эпителия яичника (способность структурно и функционально перестраиваться в клетки с фибробластоподобным фенотипом под воздействием изменения микроокружения и факторов роста), экспрессия маркеров прогениторных клеток, в том числе протеинов Oct4 и NANOG [122, 123], верификация неопластических изменений поверхностного эпителия яичника в непосредственной близости к HGSC [369], возможность неопластической трансформации поверхностного эпителия яичника, показанная в эксперименте [197]. Данные концепции могут быть объединены с помощью разработки концепции морфогенеза серозных карцином из клеток переходных областей, локализующихся в области придатков матки. Такие области представляют собой участки соединения различных типов эпителия – мезотелия брюшины, поверхностного эпителия яичника и эпителия слизистой оболочки маточной трубы.

Таким образом, изучение гиперпластических изменений и интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы позволит установить критерии их диагностики, разработать подходы к их малоинвазивному выявлению, дать морфологическое обоснование алгоритму взятия материала маточной трубы для исследования, а также хирургической профилактики серозного рака яичников (оппортунистической сальпингэктомии).

### **Степень разработанности темы исследования**

Развитие концепции морфогенеза серозных опухолей яичника из эпителия слизистой оболочки маточной трубы привело к детальному изучению его молекулярно-биологических особенностей при опухолях яичника и внеовариальной патологии. Были выделены поражения, характеризующиеся изменением клеточного состава слизистой оболочки маточной трубы, поражения с неизменным фенотипом, но отличным от неизменного эпителия иммунофенотипом клеток, а также поражения с фенотипическими и иммунофенотипическими изменениями эпителиоцитов слизистой оболочки маточной трубы [254, 289]. Однако для того, чтобы выявить наиболее ранние изменения клеточного состава слизистой оболочки маточной трубы, определить возможные дополнительные источники развития HGSC необходима оптимизация подхода к взятию гистологических образцов на исследование, алгоритм которого в настоящее время не разработан. Для повышения точности диагностики STIC был предложен алгоритм двухэтапной оценки слизистой оболочки маточной трубы с определением экспрессии супрессора опухолевого роста p53 и индекса пролиферативной активности Ki-67 [428], однако в случаях нонсенс-мутаций гена TP53, а также сомнительной/пограничной экспрессии данных маркеров требуется применение дополнительной иммуногистохимической панели, которая в настоящее время также не разработана. Для ранней малоинвазивной диагностики гиперпластических изменений и интраэпителиальных поражений

был использован цитологический метод [135], однако применение жидкостной цитологии совместно с иммуноцитохимией для повышения качества диагностики в предшествующих исследованиях предложено не было. Изучение профилей экспрессии мкРНК для разработки диагностических панелей скрининга и ранней диагностики рака яичников проводилось без учета ведущих морфогенетических изменений слизистой оболочки маточной трубы в развитии этих опухолей [278, 330]. Также необходим подробный анализ клеточного состава тех зон в области придатков матки, в которых происходит переход одного типа эпителия в другой, так как именно в таких переходных зонах может быть инициирован неопластический процесс в других анатомических областях, что было убедительно показано экспериментальными и клиническими исследованиями [130, 271]. Однако большинство работ, посвященных данной теме, ограничены исследованиями только парафимбриальной переходной зоны [374], не учитывающими морфологические особенности других переходных областей. Кроме того, экспрессия маркеров прогениторных клеток в данных областях изучена лишь фрагментарно [121, 321].

Таким образом, в настоящее время предложены алгоритмы диагностики гиперпластических изменений эндосальпинкса [254], а также интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы [434], однако воспроизводимость диагнозов в соответствии с этими алгоритмами недостаточна и требует улучшения. Метод цитологического исследования мазков, взятых из фимбриального отдела маточной трубы, мало изучен в аспекте малоинвазивной диагностики интраэпителиальных поражений, не предложены критерии их цитологической верификации, не исследованы возможности применения иммуноцитохимического исследования для их диагностики. Разработанные панели мкРНК для неинвазивной дифференциальной диагностики серозных опухолей яичника не учитывают изменения слизистой оболочки маточной трубы. Предложенные концепции

морфогенеза серозных опухолей носят разрозненный характер и не учитывают возможности существования не одного, а нескольких источников развития идентичных HGSC. Следовательно, необходимо установить критериев диагностики патологических изменений слизистой оболочки маточной трубы, разработка методов их ранней, не/малоинвазивной диагностики, а также единой концепции морфогенеза серозных опухолей яичника. Кроме того, эти данные позволят обосновать стратегию хирургической профилактики рака яичников [308, 372].

#### **Цель исследования:**

Охарактеризовать морфологические, иммуногистохимические и молекулярно-биологические особенности эпителия слизистой оболочки маточной трубы и трубно-овариальной области, определить морфогенез серозных опухолей яичника для разработки методов их ранней диагностики и предикции.

#### **Задачи исследования:**

1. Определить возможности дифференциальной диагностики серозных карцином яичника на основе данных клинико-инструментального и лабораторного обследований и интраоперационной оценки размеров опухоли;
2. Выявить морфологические, цитологические, иммуногистохимические и иммуноцитохимические особенности гиперпластических изменений и интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы при эпителиальных опухолях яичника по экспрессии белков p53, Ki-67, p16, stathmin1, laminin-gamma1, PAX2, Vcl-2,  $\beta$ -catenin;
3. Разработать алгоритм морфологической диагностики гиперпластических изменений и интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы;
4. Установить критерии риска развития серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности на основании особенностей

распределения секреторных клеток слизистой оболочки маточной трубы с учетом возраста больных;

5. Определить профиль экспрессии мкРНК генов серозных опухолей яичника методом создания кДНК-библиотек мкРНК с последующим глубоким секвенированием;

6. Выявить морфологические и иммуногистохимические особенности овариально-фимбриальной области придатков матки с оценкой экспрессии маркеров прогениторных клеток LGR5; NANOG, Oct4, LHX9, CD177, CD44.

### **Научная новизна**

Впервые изучены морфологические и иммуногистохимические особенности патологических изменений эпителия слизистой оболочки маточных труб пациенток с серозными опухолями яичника в сравнении с внеовариальной патологией и установлены их морфологические критерии. Показано, что для серозных пограничных опухолей яичника характерны гиперпластические изменения эндосальпинкса, а для серозных карцином яичника высокой степени злокачественности – интраэпителиальные поражения слизистой оболочки маточных труб.

При исследовании участков слизистой оболочки маточной трубы, высланных только секреторными клетками, продемонстрировано, что с увеличением возраста отмечается повышение количества участков слизистой оболочки маточной трубы, высланных только секреторными клетками (не менее 10 и не менее 30 клеток) при всех серозных опухолях и внеовариальной патологии. При серозных карциномах яичника высокой степени злокачественности в маточных трубах отмечено наибольшее количество таких участков. На основании регрессионного анализа предложена формула для определения риска наличия HGSC с использованием показателей клеточного состава слизистой оболочки маточной трубы и возраста пациентки.

Получены данные об экспрессии ранее не изученных мкРНК в тканях фимбриального отдела маточных труб, а также серозных опухолей яичников различной степени злокачественности. Установлено, что серозные пограничные опухоли имеют 24,2% общих мкРНК с серозными доброкачественными опухолями и 6,3% общих мкРНК с HGSC. Эти данные подтверждают концепцию о различных путях морфогенеза серозных пограничных опухолей и HGSC.

В переходных зонах придатков матки увеличено количество клеток, позитивных в отношении маркеров прогениторных клеток – белков LGR5, NANOG, Oct4 и LHX9. Эти зоны являются потенциально уязвимыми для мутагенных воздействий, и они могут рассматриваться в качестве источников происхождения серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности.

### **Научно-практическая значимость**

Полученные в работе результаты позволяют дать морфологическое и молекулярное обоснование морфогенеза серозных доброкачественных и пограничных опухолей яичника, а также серозных карцином высокой степени злокачественности, что послужит основой для разработки критериев диагностики и определить методы исследования, необходимые для верификации гиперпластических изменений и интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы. В работе представлена теоретическая значимость результатов исследования: показана взаимосвязь между гиперпластическими изменениями эндосальпинкса и серозными пограничными опухолями яичника, а также между интраэпителиальными поражениями слизистой оболочки маточной трубы и серозными карциномами яичника высокой степени злокачественности. В качестве источников происхождения последних автором также рассмотрены прогениторные клетки парафимбриальной и параовариальной переходных зон.

С учетом полученных данных разработан морфологический алгоритм диагностики гиперпластических изменений эндосальпинкса и трехэтапный алгоритм диагностики STIC. Также определены возможности цитологического и иммуноцитохимического метода исследования в качестве малоинвазивного способа диагностики патологических изменений слизистой оболочки маточной трубы, на основании которых выделены критерии цитологической диагностики STIC. Предложена формула для прогнозирования риска развития серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности:  $HGSC = 0,22 * SCE + 0,055 * SCOUT - 0,068 * BO3 + 0,72$ , в которой HGSC – дискриминантная функция, характеризующая вероятность наличия серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности, SCE – количество участков слизистой оболочки, высланных только секреторными клетками (не менее 10), SCOUT – количество участков слизистой оболочки, высланных только секреторными клетками (не менее 30), BO3 – возраст пациентки (полных лет) позволяет достичь диагностическую эффективность равную 98,2%, обладает чувствительностью 92,8% и специфичностью 100,0%. Данная формула позволяет с высокой достоверностью определить наличие HGSC, что имеет важное значение для определения тактики лечения женщин репродуктивного возраста при оппортунистической сальпингэктомии (патент «Способ ранней диагностики серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности на основании изменения клеточного состава эпителия маточной трубы» (2018 г.). Определены молекулярные особенности тканей фимбриального отдела маточных труб и серозных опухолей яичника с помощью профиля экспрессии мкРНК генов на основании которых предложена диагностическая панель для неинвазивной диагностики данных опухолей (патент Количественная оценка has-miR-16-5p, has-miR-425-5p, has-miR-17-5p, has-miR-20a-5p, has-miR-101-3p, has-miR-30d-5p и has-miR-93-5p в плазме периферической крови женщин как способ неинвазивной диагностики серозных пограничных цистаденом и цистаденокарцином яичника (2019)).

С учетом полученных данных о морфологии и иммуногистохимических особенностях трубно-овариальной переходной области разработан алгоритм морфологического исследования маточной трубы с учетом репрезентативного представления переходных зон и фимбриального отдела маточной трубы, а также дифференциального подхода в зависимости от показаний к хирургическому вмешательству.

### **Положения выносимые на защиту**

1. Доброкачественные и злокачественные серозные опухоли яичника демонстрируют отсутствие статистически значимых различий при гинекологическом и ультразвуковом исследовании, а также по уровню онкомаркера СА-125. По данным оценки клинического течения заболевания и патоморфологического исследования серозных опухолей яичника корреляции между клиническими проявлениями и гистотипом опухоли отсутствуют;
2. При серозных пограничных опухолях в маточных трубах наблюдаются гиперпластические изменения эндосальпинкса с формированием в складках слизистой оболочки папиллярных выростов и мелких папиллярных структур, компактным расположением складок эндосальпинкса, наличием псаммомных телец. При серозных карциномах высокой степени злокачественности в маточных трубах выявлены интраэпителиальные поражения без фенотипического изменения эпителиоцитов с отсутствием экспрессии PAX2 и выраженной экспрессией Vcl-2 и  $\beta$ -catenin, и с фенотипическим изменением эпителиоцитов – с выраженной экспрессией p53 и Ki-67;
3. Для диагностики гиперпластических изменений эндосальпинкса и интраэпителиальных поражений без фенотипических изменений эпителиоцитов с показателем воспроизводимости диагнозов  $>0,7$  не требуется применение иммуногистохимических маркеров, а для диагностики STIC – необходима оценка экспрессии белков p53 и Ki-67, а при

сомнительной/пограничной экспрессии последних – оценка экспрессии p16/laminin-gamma1/stathmin1;

4. Установлены различные пути морфогенеза серозных доброкачественных цистаденом/серозных пограничных опухолей и HGSC, что документируется построенной по данным глубокого секвенирования корреляционной матрицей экспрессии мкРНК. Серозные пограничные опухоли яичника имеют больше общих мкРНК с серозными доброкачественными опухолями, чем с серозными карциномами высокой степени злокачественности. Более высокая общность профилей мкРНК для серозных доброкачественных и серозных пограничных опухолей, чем последних и HGSC подтверждает концепцию о различном происхождении пограничных серозных опухолей яичников и HGSC;

5. Количество клеток, позитивных в отношении маркеров прогениторных клеток – белков LGR5, NANOG, Oct4 и LHX9 – выше в непосредственной близости от перехода одного типа эпителия в другой, чем за пределами переходных областей, при этом STIC чаще локализуются в непосредственной близости к парафимбриальной переходной зоне.

**Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.03.02 – патологическая анатомия, согласно пунктам 1,2,3 и 4.**

### **Методология и методы исследования**

Методологически работа заключалась в системном подходе и комплексном анализе данных морфологического исследования слизистой оболочки маточной трубы и сопоставлении их с данными иммуногистохимического, цитологического, иммуноцитохимического и молекулярно-генетического исследований. Проведен критический анализ научных публикаций отечественных и зарубежных авторов в области морфогенеза патологических изменений слизистой оболочки маточной трубы и серозных опухолей яичников. На основании анализа были сформулированы

задачи работы – изучение особенностей гиперпластических изменений и интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы, их связи с определенными типами серозных опухолей и значения в разработке способов ранней диагностики серозных карцином яичника В работе были использованы современные морфологические методы: иммуногистохимический, иммуноцитохимический, генетический и метод анализа экспрессии мкРНК, комплексный статистический анализ.

### **Внедрение результатов в практику:**

Результаты исследования используются в работе патологоанатомического отделения ФГБУ «НМИЦ АГП им.В.И. Кулакова» Минздрава России и внедрены в учебный процесс на кафедре патологической анатомии МГМСУ им. А.И. Евдокимова.

### **Степень достоверности и апробация работы:**

Достоверность результатов обеспечивается последовательным и логичным изложением задач исследования и их решением, использованием комплекса современных методов, достаточным объемом данных для каждой исследуемой группы и количеством групп сравнения, адекватным применением методов статистического анализа, критической оценкой полученных результатов при сравнении их с данными современной литературы.

Материалы исследования доложены на всероссийских и международных конференциях: доклады были представлены на конгрессах европейского общества патологов (ЕСР), (2013, Лиссабон; 2015, Белград; 2016, Кёльн, 2017, Амстердам и 2019, Ницца), Академии европейского общества патологов (ЕСРА) (2018, Брюссель), конгрессе международного общества патологов (IAP) (2018, Амман), международных конгрессах гинекологов-эндокринологов (ICGE) (2016 и 2018 (Флоренция), Международном конгрессе, посвященном трудностям диагностики и лечения

акушерских и гинекологических заболеваний (COGI) (2016, Амстердам). На Российских конгрессах доклады были представлены на форумах «Мать и дитя» (2015, 2016, 2017, 2018 гг., Москва), Конгрессах лабораторной медицины (2017, 2019 гг., Москва), V российском съезде патологоанатомов (2017, Челябинск), Петербургском международном онкологическом форуме (2018, Санкт-Петербург), Российской онкологическом конгрессе (2019, Москва).

### **Личный вклад автора**

Личное участие автора заключалось в планировании и проведении исследования, статистической обработке, обобщении и анализе полученных результатов, подготовке публикаций.

### **Публикации по теме работы**

Результаты исследования изложены в 47 работах, из которых 18 входят в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук.

Получено 2 патента на изобретения.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 253 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследования и их обсуждения, заключения, выводов и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 95 рисунками и 12 таблицами. Список литературы включает 448 источников из них 105 отечественных и 333 зарубежных.

## **ГЛАВА 1. ПРОБЛЕМЫ ПАТОГЕНЕЗА И ДИАГНОСТИКИ СЕРОЗНОЙ КАРЦИНОМЫ ЯИЧНИКОВ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ (обзор литературы)**

Среди всех новообразований яичников эпителиальные опухоли преобладают и составляют около 90%, при этом, подобное распределение отмечается как в отношении доброкачественных, так и злокачественных опухолей.

Среди эпителиальных опухолей, в свою очередь, преобладают серозные опухоли (около 70%) [187]. Самым распространенными злокачественными опухолями являются серозные карциномы высокой степени злокачественности (70%), серозные карциномы низкой степени злокачественности встречаются значительно реже (не более 10%) [255]. Доброкачественные серозные опухоли встречаются примерно в 70% случаев среди серозных опухолей, пограничные – в 9-15% [311].

Злокачественные опухоли яичников структуре онкологических заболеваний у женщин в США занимают 9 место, в Европе – 6, в России – 8 место. Среди причин смертности от онкологической патологии у женщин злокачественные опухоли яичников занимают в США и в Европе 5 место, в России – 1 место.

В 2013 г. в России было диагностировано 13262 новых случаев злокачественных образований яичников, в США - 22 240, в Европе – 44149, в мире – более 220 000. Смертность от рака яичников в России составила 7645 в США – 14 030, в Европе – 29758, в мире – более 140 000 человек.

Заболеваемость карциномой яичников в России составила 17,81 человек на 100 000 населения, в США – 12,5, в Европе данный показатель был равен 13,1 человек на 100 000 населения (наибольший показатель был зарегистрирован в Латвии (18,9), наименьший – в Албании (14,2) [21, 384].

В России средний возраст больных, страдающих злокачественными опухолями яичников, составил 58,7%. Прирост заболеваемости злокачественными опухолями яичников за последние 10 лет составил 9,15%.

Общая 5-летняя выживаемость при карциноме яичника составила в США 44.2%, в Европе – 36.3% [399], в России – 20-35% [21].

Следует отметить, что показатели заболеваемости злокачественными опухолями неоднородны, неравномерна и встречаемость вариантов эпителиальных карцином яичника. Так, эпителиально-стромальные опухоли составляют 85-95% среди всех злокачественных опухолей яичников, полового тяжа и стромы – 5-8%, зародышевоклеточные – 3-5%, метастатические поражения – 4-6%. Среди карцином яичника наиболее распространены серозные карциномы высокой степени злокачественности (65%), серозная карцинома низкой степени злокачественности встречается в 3%, эндометриоидная карцинома – в 10%, светлоклеточная – в 10%, муцинозная – в 3% [184, 212]. Пограничные опухоли яичников встречаются в 4-14% всех овариальных новообразований яичников и в 12-33% – от всех эпителиальных опухолей [183].

Средний возраст пациенток с различными гистологическими вариантами карцином яичника также различается: LGSC наиболее часто встречаются в возрастном промежутке 45-57 лет, в то время как для пациенток с HGSC характерен возраст 55-65 лет [437].

Следует отметить, что серозные опухоли преобладают как среди доброкачественных, так и среди пограничных и злокачественных эпителиально-стромальных опухолей яичника. В связи с этим данная работа посвящена именно серозным овариальным опухолям, их морфогенезу, интраэпителиальным предшественникам и методам их ранней диагностики.

## Современная классификация опухолей яичников

В настоящее время современной классификацией опухолей яичника считается принятая в 2014 году классификация ВОЗ, в соответствии с которой выделяют:

<b>1. Эпителиальные опухоли</b>	
<b>1.1. Серозные опухоли</b>	
Доброкачественные:	
	серозная цистаденома
	серозная цистаденофиброма
	серозная поверхностная папиллома
Пограничные:	
	серозная пограничная опухоль/атипическая пролиферирующая серозная опухоль
	серозная пограничная опухоль — микропапиллярный вариант/неинвазивная высокодифференцированная серозная карцинома
Злокачественные:	
	высокодифференцированная серозная карцинома
	низкодифференцированная серозная карцинома
<b>1.2. Муцинозные опухоли</b>	
Доброкачественные:	
	муцинозная цистаденома
	муцинозная аденофиброма
Пограничные:	
	муцинозная пограничная опухоль/атипическая пролиферирующая муцинозная опухоль
Злокачественные:	
	муцинозная карцинома
<b>1.3. Эндометриоидные опухоли</b>	
Доброкачественные:	
	эндометриоидная киста
	эндометриоидная цистаденома
	эндометриоидная аденофиброма
Пограничные:	
	эндометриоидная пограничная опухоль/атипическая пролиферирующая эндометриоидная пограничная опухоль
Злокачественные:	
	эндометриоидная карцинома

1.4. Светлоклеточные опухоли	
Доброкачественные:	
	светлоклеточная цистаденома
	светлоклеточная аденофиброма
Пограничные:	
	пограничная светлоклеточная опухоль/атипическая пролиферирующая светлоклеточная опухоль
Злокачественные:	
	светлоклеточная карцинома
1.5. Опухоли Бреннера	
Доброкачественные:	
	опухоль Бреннера
Пограничные:	
	пограничная опухоль Бреннера/атипическая пролиферирующая опухоль Бреннера
Злокачественные:	
	злокачественная опухоль Бреннера
1.6. Серомуцинозные опухоли	
Доброкачественные:	
	серомуцинозная цистаденома
	серомуцинозная цистаденофиброма
Пограничные:	
	пограничная серомуцинозная опухоль/атипическая пролиферирующая серомуцинозная опухоль
Злокачественные:	
	серомуцинозная карцинома
1.7. Недифференцированная карцинома	
<b>2. Мезенхимальные опухоли</b>	
	высокодифференцированная эндометриальная стромальная саркома
	низкодифференцированная эндометриальная стромальная саркома
2.1. Смешанные эпителиальные и мезенхимальные опухоли	
	аденосаркома
	карциносаркома
<b>3. Опухоли стромы полового тяжа</b>	
3.1. Чистые стромальные опухоли	
	фиброма
	клеточная фиброма
	текома

	текома с лютеинизацией, ассоциированная со склерозирующим перитонитом
	фибросаркома
	склерозирующая стромальная опухоль
	перстневидно-клеточная стромальная опухоль
	микрокистозная стромальная опухоль
	опухоль из клеток Лейдига
	стероидоклеточная опухоль
	злокачественная стероидоклеточная опухоль
<b>3.2. Чистые опухоли из клеток полового тяжа</b>	
	гранулезоклеточная опухоль взрослого типа
	гранулезоклеточная опухоль ювенильного типа
	опухоль из клеток Сертоли
	опухоль из клеток полового тяжа с трубчатыми структурами
<b>3.3. Смешанные опухоли из клеток и стромы полового тяжа</b>	
<b>3.3.1. Опухоли из группы Сертоли—Лейдига</b>	
	высокодифференцированные
	умереннодифференцированные
	- с гетерологичными элементами
	низкодифференцированные
	- с гетерологичными элементами
	ретиформные
	- с гетерологичными элементами
	Опухоли стромы полового тяжа, не классифицируемые
<b>4. Герминогенные опухоли</b>	
	дисгерминома
	опухоль желточного мешка
	эмбриональный рак
	негестационная хориокарцинома
	зрелая тератома
	незрелая тератома
	смешанная герминогенная опухоль
<b>5. Монодермальная тератома и органоидные опухоли, формирующиеся из дермоидных кист</b>	
	Струма яичника, доброкачественная
	Струма яичника, злокачественная
	Карциноид
	струма-карциноид
	муцинозный карциноид
	Опухоли нейроэктодермального типа
	Опухоли сальных желез

	аденома сальных желез
	карцинома сальных желез
Другие редкие монодермальные тератомы	
Карциномы	
	плоскоклеточная карцинома
	другие
<b>6. Смешанные герминогенные опухоли и опухоли из клеток стромы полового тяжа</b>	
	гонадобластома, включающая гонадобластому со злокачественными герминогенными клетками смешанная опухоль из герминогенных клеток и клеток стромы полового тяжа, неклассифицируемая
<b>7. Прочие опухоли</b>	
	опухоль сети яичника
	аденома сети яичника
	аденокарцинома сети яичника
	опухоль из клеток Вольфа протока
	мелкоклеточная карцинома, гиперкальциемический тип
	мелкоклеточная карцинома, легочный тип
	опухоль Вильмса
	параганглиома
	солидная псевдопапиллярная опухоль
<b>8. Мезотелиальные опухоли</b>	
	аденоматоидная опухоль
	мезотелиома
<b>9. Мякотканые опухоли</b>	
	миксома
	другие
<b>10. Опухолоподобные состояния</b>	
	фолликулярная киста
	киста желтого тела
	крупная солитарная лютеинизирующая фолликулярная киста
	гиперреактивная лютеинизация
	лютеома беременности
	стромальная гиперплазия
	стромальный гипертекоз
	фиброматоз
	массивный отек
	гиперплазия клеток Лейдига
	Другие

<b>11. Лимфоидные и миелоидные опухоли</b>	
	лимфомы
	плазмоцитомы
	миелоидные опухоли
<b>12. Вторичные опухоли</b>	

Основным отличием данной классификации является выделение гистологических вариантов эпителиально-стромальных опухолей в качестве самостоятельной патологии, имеющих не только различные морфологические особенности, но и отличаются клиническим течением, восприимчивостью к терапии, патогенезом, молекулярными и генетическими особенностями.

В то время, как предыдущая классификация опухолей яичников ВОЗ (Лион, 2003) [256], основанная на последовательном развитии высоко-умеренно-и низкодифференцированных опухолей, в связи с накоплением новых данных утратила свое значение, в настоящее время получила распространение концепция выделения опухолей яичников высокой и низкой степени злокачественности, при этом выделены карциномы I и II типов типа [250, 257].

К карциномам I типа отнесена высокодифференцированная серозная и эндометриоидная, а также светлоклеточная и муцинозная карцинома, низкодифференцированная карцинома и карциносаркома. Опухоли I типа характеризуются медленным ростом, частой диагностикой на ранних клинических стадиях распространения, вероятным развитием из доброкачественных и пограничных предшественников.

Опухоли II типа отличаются агрессивным течением, часто обнаруживаются на поздних стадиях, ответственны за большую долю смертности при карциномах яичника.

В генотипическом отношении опухоли I типа более стабильны. Так, для серозных опухолей I типа свойственна мутация в генах KRAS, BRAF и ERBB2 [252, 291, 416], тогда как для серозных опухолей II группы характерны мутации в гене TP53, редко встречающиеся при опухолях I типа [426]. Эндометриоидные карциномы I типа часто содержат мутации в генах

CTNNB1, PTEN и PIK3CA, а в большинстве эндометриоидных карцином II типа чаще наблюдаются мутации в гене KRAS [122].

Следует, однако, отметить, что не все исследователи поддерживали предложенную классификацию, поскольку каждый из гистологических вариантов рака яичников характеризуется разными генетическими и молекулярно-биологическими особенностями. Кроме того, разные опухоли из одной группы (I или II типа) не только по-разному отвечают на химиотерапевтическое лечение, но и отличаются прогнозом в отношении выживаемости больных [335]. Поэтому в последней классификации опухолей ВОЗ вошло разделение на опухоли I и II типа только в отношении серозных карцином яичника, для которых такое деление не только наиболее обосновано, но и имеет клиническое значение.

Однако, прежде чем перейти к рассмотрению концепции происхождения серозных опухолей следует отметить те факторы риска, которые влияют на возникновение тех или иных гистотипов карцином яичника и вносят существенный вклад в понимание механизма их морфогенеза.

Прежде всего, среди факторов риска следует выделить герминогенные мутации в генах BRCA1/2: было показано, что около 3,6% пациенток с карциномами яичников имеют мутации в гене BRCA1 и 3,3% – в гене BRCA2, в целом с герминогенными мутациями в этих генах связывают от 10 до 20% случаев возникновения карцином яичника [199,232,295]. Кроме того, важное значение имеют модифицируемые и связанные с образом жизни факторы риска. Так, хорошо известно, что риск развития рака яичников увеличивается у женщин с большим числом овуляторных циклов, а те факторы, вследствие влияния которых количество овуляторных циклов уменьшается, напротив, снижают риск развития карцином яичника (например, применение оральных контрацептивов, большое число родов и длительное грудное вскармливание). Кроме того, было отмечено, что лигирование маточных труб снижает риск

развития рака яичников, в то время как курение, ожирение, сахарный диабет этот риск повышают.

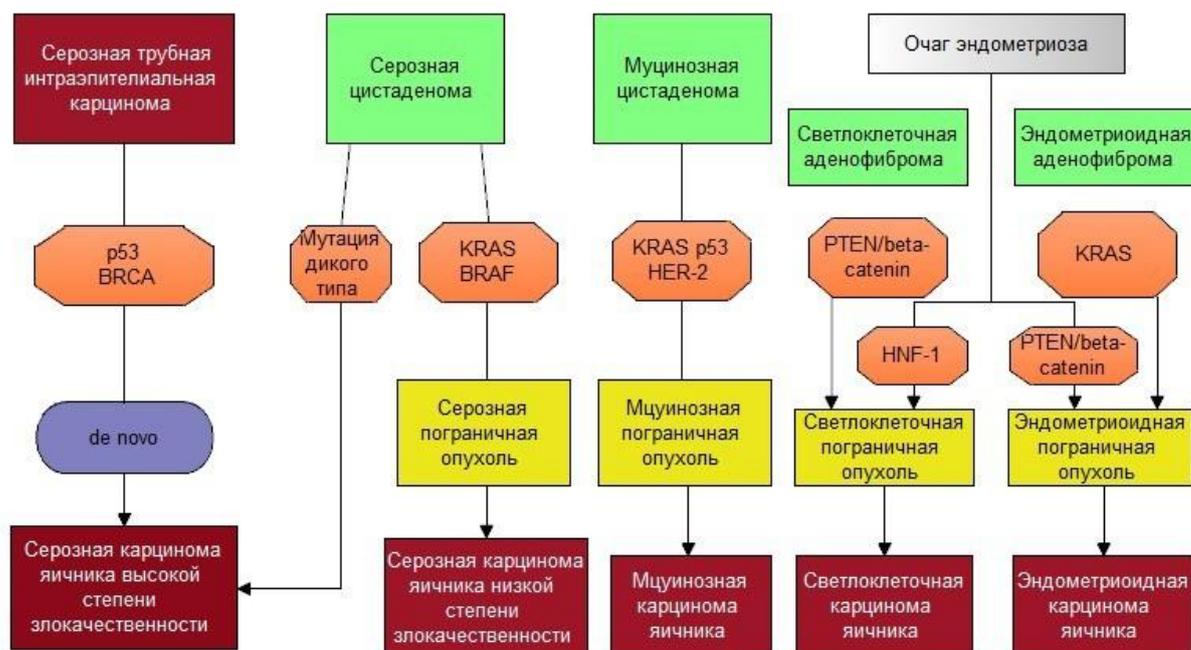
Также нельзя не упомянуть, что ни одна из рассмотренных далее концепций не обходит стороной один из важнейших механизмов, лежащих в основе неопластических изменений эпителия – воспалительный процесс. Связывающая воспаление и карциногенез гипотеза была предложена еще в 1863 Рудольфом Вирховым, который предположил, что возникновение неопластического процесса может быть топически связано с локализацией хронического воспаления [254]. Таким образом, определенная взаимосвязь между раздражающими агентами, биологически активными веществами, повреждением ткани, потенцирующими развитие воспалительного процесса, усиливает пролиферацию клеток. В дальнейшем было показано, что пролиферация клеток сама по себе не может быть единственной причиной возникновения злокачественной опухоли, необходимо также угнетение антипролиферативных, проапоптотических факторов, определенное взаимодействие факторов роста, активированных клеток стромы, повреждающих ДНК агентов и мн. др. Во время повреждения ткани, клеточная пролиферация усиливается, потенцируя регенерацию ткани, пролиферация и воспаление угнетаются при элиминации этиологического фактора или завершении процесса репарации. Проллиферация же тех клеток, в которых не произошла репарация поврежденной ДНК или тех, в которых «закрепилась» туморогенная мутация потенцируется при наличии соответствующего микроокружения, богатого провоспалительными факторами. Таким образом, становится понятным, почему важное значение имеет воспаление и в морфогенезе рака яичников [268]. Помимо эпидемиологических данных, были накоплены и многочисленные экспериментальные, показывающие что именно воспалительный процесс является неотъемлемой частью развития неопластического процесса на территории яичника как при возникновении предракового поражения в маточной трубе, так и при стадийном развитии его

в ткани самого яичника. С использованием биологических моделей было показано, что воспаление, возникающее при овуляции, напрямую связано с инициацией неопластических изменений, причем ключевую роль играет период, непосредственно приближенный к травме и репарации, что свидетельствует о дополнительной роли факторов роста, участвующих в реакции на повреждение и заживление тканей [201]. В связи с этим, воспалительный процесс в любой области малого таза может рассматриваться в качестве неблагоприятного фона, при котором неопластические измененные клетки будут «привлекаться» в зоны такого воспалительного процесса, потенцируя распространение патологического процесса. Это может косвенно объяснять и тот факт, что с возрастом количество как предраковых, так и злокачественных эпителиальных поражений яичников увеличивается, поскольку было показано, что субклинические признаки воспаления становятся более выраженными по мере увеличения возраста пациенток [162, 195, 406]. По-видимому, с этим же связано успешное применение противовоспалительных средств в комбинации с противоопухолевыми препаратами практически при любой локализации злокачественной эпителиальной опухоли и в том числе и при карциномах яичника.

### **1.1. Современные представления об этиологии и патогенезе эпителиальных опухолей**

Современные представления о ранних этапах патогенеза эпителиально-стромальных опухолей подразумевают значительную гетерогенность источников происхождения каждого гистотипа опухоли. Некоторые исследователи полагают, что большинство таких источников находятся за пределами яичника [254]. Другие считают, что основное значение в патогенезе данных опухолей принадлежит плюрипотентным клеткам поверхностного эпителия яичника (ПЭЯ) (рис. 1) [123]. Сторонники обеих концепций приводят убедительные доказательства их правомочности, поэтому следует рассмотреть их более подробно, так как каждый из приведенных аргументов

вносит вклад не только в фундаментальное понимание механизмов развития опухолей, которым посвящено настоящее исследование, но и являются основой клинических разработок, направленных на снижение заболеваемости и смертности при злокачественных поражениях яичников.



**Рисунок 1.** Предполагаемые источники происхождения эпителиальных опухолей яичника (цит. по: Lalwani N., 2011) [219]

### 1.1.1. Концепция происхождения серозных опухолей яичника из эпителия маточной трубы

Концепция происхождения серозных опухолей яичника из эпителия маточной трубы существует не так давно, но уже накоплен большой объем информации, касающейся различных аспектов развития овариального поражения из эндосальпинкса. Впервые эпителий фимбриального отдела маточной трубы был рассмотрен в качестве источника развития HGSC был рассмотрен J. Piek et al. [171], описавшими у женщин, генетически предрасположенных к раку яичников, предшественник данных опухолей –

серозную интраэпителиальную карциному слизистой оболочки маточной трубы (serous tubal intraepithelial carcinoma, STIC) в сочетании с инвазивной серозной карциномой маточной трубы, имеющей значительное сходство с HGSC. При этом изменений яичников у данных женщин обнаружено не было. Кроме того, патологические изменения были выявлены, в основном, в фимбриях маточной трубы и изредка в других ее отделах, что позднее было подтверждено и другими исследователями [260, 420, 447].

Полученные в данной работе результаты явились основой к пересмотру алгоритма исследования маточной трубы, поскольку было сделано предположение о гиподиагностике предраковых поражений и интраэпителиальных карцином маточной трубы.

Был разработан протокол исследования маточной трубы, направленный на подробное изучение ее структуры, главным образом – фимбриального отдела (протокол, регламентирующий вырезку и подробное исследование фимбриального отдела маточной трубы (SEE-FIM protocol) **Ошибка! Источник ссылки не найден.**[346].

Дополнительные исследования, проведенные с использованием данного протокола, а также изучение молекулярно-генетических особенностей STIC и сопутствующих HGSC позволили получить результаты, в настоящее время служащие доказательством концепции «трубного» происхождения серозных карцином яичника:

- До настоящего времени не выявлено ранних предшественников серозных карцином в яичнике и/или брюшине, которые можно было бы рассматривать в качестве источников развития данного вида опухоли [254].
- Наличие STIC (в том числе, с признаками мутации в гене TP53) при отсутствии карциномы яичника с или без генетической предрасположенности к карциноме яичника [ 138, 232, 339, 342].
- При профилактической сальпингоовариоэктомии STIC выявляется чаще, чем неопластические изменения в яичнике у женщин с

генетической предрасположенностью к карциноме яичников (мутации в генах BRCA1/2) [42, 144, 339, 355, 420].

- STIC возникает как поражение, сопутствующее в основном серозным карциномам яичника и редко встречается в сочетании с другими гистологическими вариантами карцином яичника [117, 357] **Ошибка! Источник ссылки не найден.** имбриальный отдел маточной трубы, находящийся в непосредственной близости к поверхности яичника/брюшине, является наиболее частым местом локализации STIC [420].

- Указывается на высокую частоту диагностирования STIC в сочетании с серозной карциномой яичника (до 70%), перитонеальной карциномой (до 50%) и карциномой маточной трубы [117, 237, 373, 379].

- Отмечается высокая частота встречаемости идентичных мутаций гена TP53 в STIC и областях эпителия слизистой оболочки маточной трубы с высокой экспрессии p53 (p53-signature), а также ткани сопутствующих серозных перитонеальных карцином и HGSC [237, 379, 428].

- Выявление анеусомии по множеству хромосом в изолированном атипическом/диспластическом эпителии STIC [143].

- Установлены значительные различия в длине теломер в клетках STIC и сопутствующей серозной HGSC; если бы STIC являлась метастазом серозной карциномы высокой степени злокачественности яичника/брюшины, то эпителий в данном поражении имел бы такую же длину теломер) [382].

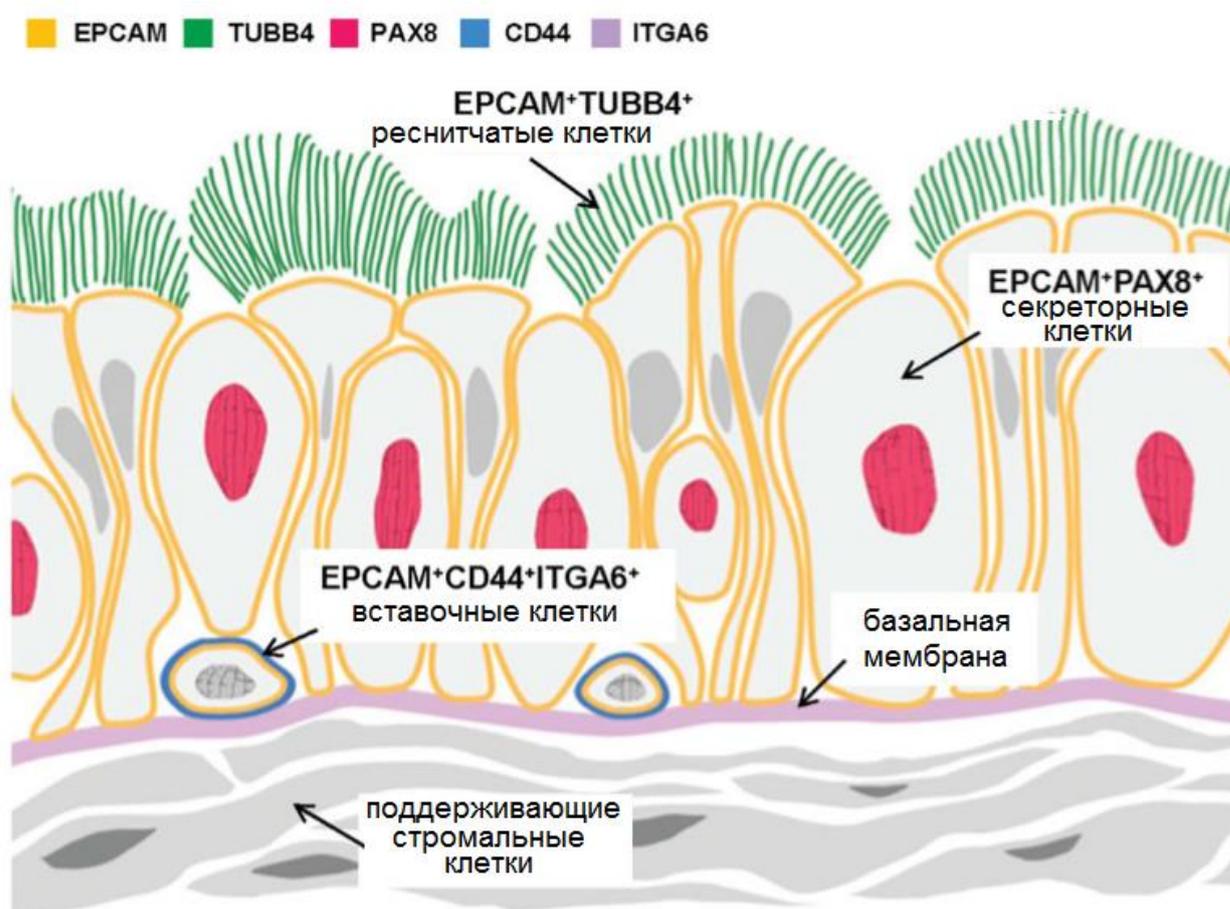
- Обращается внимание на идентичность уровня экспрессии генов в карциномах маточной трубы и яичника [208], при этом, уровень экспрессии генов серозной карциномы яичника более близок к таковому для неизмененного эпителия маточной трубы, чем для неизмененного ПЭЯ [323].

На основании этих данных, сторонники концепции происхождения серозных карцином яичника из эпителия фимбриального отдела маточных труб разработали концепцию патогенеза серозных карцином яичника и пограничных опухолей. Предложенные модели развития вышеуказанных опухолей в значительной степени отличаются друг от друга, однако, во всех

случаях имеет место ступенчатый процесс с характерными предшественниками, которые будут представлены далее.

### 1.1.1.1. Патогенез серозных карцином яичника высокой степени злокачественности

Неизменный эпителий маточной трубы включает в себя три типа клеток: реснитчатые, секреторные и вставочные (рис. 2), которые отличаются своим иммунофенотипом [194, 202, 277, 363].



**Рисунок 2.** Современное представление о гистологическом строении маточной трубы (цит. по: Paik D. et al.) [215]

Так, для реснитчатых клеток характерна позитивная экспрессия p73 и отсутствие экспрессии Vcl-2 и PAX8 [182, 190, 210], тогда как для секреторных – отсутствие экспрессии p73 и позитивная экспрессия Vcl-2, IMP3, PAX8 [229,

230, 294, 341]. Вставочным клеткам свойственно экспрессия маркеров прогениторных клеток. Было показано, что эти клетки позитивны в отношении CD44, не имели ни секреторного, ни цилиарного фенотипа и не экспрессировали характерных для этих типов клеток TUBB4 или PAX8 [397].

В процессе возникновения интраэпителиальных поражений возникают различные изменения в соотношении данных типов клеток, их морфо- и иммунотипе.

***SCOUT (secretory cells outgrowth) (участок слизистой оболочки маточной трубы, выстланный не менее, чем десятью непрерывно расположенными секреторными клетками)***

В качестве начального этапа патогенеза интраэпителиального поражения в маточной трубе рассматривают SCOUT (secretory cell outgrowth) [326, 371], изменение эпителия маточной трубы, для которого свойственны участки, состоящие не менее, чем из 30 последовательно расположенных секреторных клеток. Данная особенность эпителия слизистой оболочки маточной трубы сопровождается отсутствием в клетках экспрессии p73, повышенной экспрессией Vcl-2 и снижением экспрессии PAX2 (фактор транскрипции) [398]. Однако, экспрессия gamma-H2AX (маркер репарации ДНК) и p53 (ген-супрессор опухолевого роста) соответствует таковой в неизменном эпителии слизистой оболочки маточной трубы [107, 240]. Это отражает отсутствие изменений процесса репарации ДНК и мутации в гене-супрессоре опухолевого роста p53, что наблюдается на более поздних этапах карциногенеза.

Кроме того, было выявлено, что SCOUT чаще встречаются у женщин с сопутствующими HGSC, чем в группе контроля [371]. В связи с этим в настоящее время их рассматривают в качестве одного из наиболее ранних предшественников HGSC, хотя данная патогенетическая связь требует дополнительных доказательств [352].

Далее происходит формирование «p53-signature», при которой данный участок из секреторных клеток (SCOUT) при сохранении сниженной экспрессии PAX2 имеет уже высокую экспрессию p53 и низкий пролиферативный индекс (низкая экспрессия Ki-67), а также позитивную экспрессию gamma-H2AX, свидетельствующую о нарушениях репарации ДНК [218, 371]. «p53-signature» встречается в маточных трубах при сопутствующих HGSC как у больных с BRCA мутациями, так и без них (в 37% и 33% соответственно) [71, 107], причем, при сопутствующей STIC «p53-signature» выявлялись чаще (в 53%) [324].

О том, что «p53-signature» является предшественниками более тяжелых поражений маточной трубы, а именно, серозного интраэпителиального поражения слизистой оболочки маточной трубы (англ. serous tubal intraepithelial lesion – STIL) и серозная интраэпителиальная карцинома слизистой оболочки маточной трубы (англ. serous tubal intraepithelial carcinoma, STIC) свидетельствует о несколько общих признаках, характерных как для «p53-signature», так и для STIL/STIC:

- локализация в фимбриальном отделе маточной трубы в 80% случаев;
- интенсивная экспрессия p53;
- поражение секреторных клеток;
- признаки повреждения ДНК, о чем свидетельствует точечная иммунореактивность в отношении  $\gamma$ -H2AX;
- наличие мутаций в гене TP53 почти в 60%;
- аналогичные мутации в гене TP 53 в области «p53-signature» и STIL/STIC [312].

Для того, чтобы выявить, может ли p53-signature локализоваться не только в области эндосальпинкса, но и в яичнике, было проведено исследование яичников 75 женщин-носительниц BRCA мутаций [106]. Также было показано, что p53-signature значительно реже локализуется на поверхности яичника (в ПЭЯ) и в инклюзионных кистах, что подтверждает,

что данное поражение возникает преимущественно в эпителии слизистой оболочки маточной трубы.

Встречаемость «p53-signature» у женщин с и без мутаций гена BRCA примерно одинакова, что позволяет предположить, что возникновение «p53-signature» напрямую не связано с данным генетическим фактором риска [107].

Немаловажным фактом является и то, что термин «p53-signature» недостаточно внедрен в практику врача-патологоанатома и воспроизводимость данного диагноза находится на среднем уровне (коэффициент воспроизводимости  $k = 0.40-0.51$ ) [199, 267].

На основании накопленных данных о «p53-signature» был сделан вывод, что под влиянием генотоксического воздействия секреторные клетки становятся восприимчивыми к повреждению ДНК, за этим следует мутация в гене TP53 и прогрессирование потери контроля над регуляцией клеточного цикла, что приводит к развитию HGSC [150].

***Серозное интраэпителиальное поражение слизистой оболочки  
маточной трубы (англ. – serous tubal intraepithelial lesion – STIL)***

Понятие о STIL представлено лишь одним авторским коллективом (Kurman R. et al., 2010) [337]. Накопленный этими исследователями фактический материал с диагностикой интраэпителиальных поражений маточных труб при сопутствующих серозных опухолях яичника позволил им не только выделить диагностические критерии для STIL, но и включить данное поражение в алгоритм диагностики интраэпителиальной патологии маточной трубы. Они полагают, что «p53-signature» является непосредственным предшественником STIL и отличается от него отсутствием каких-либо морфологических признаков атипии/неоплазии эпителия маточной трубы и низким пролиферативным индексом (на основании экспрессии Ki-67).

Диагностика STIL и STIC основана на наличии или отсутствии морфологических признаков атипии эпителия и экспрессии p53 и Ki-67, что представлено в схематическом изображении алгоритма диагностики

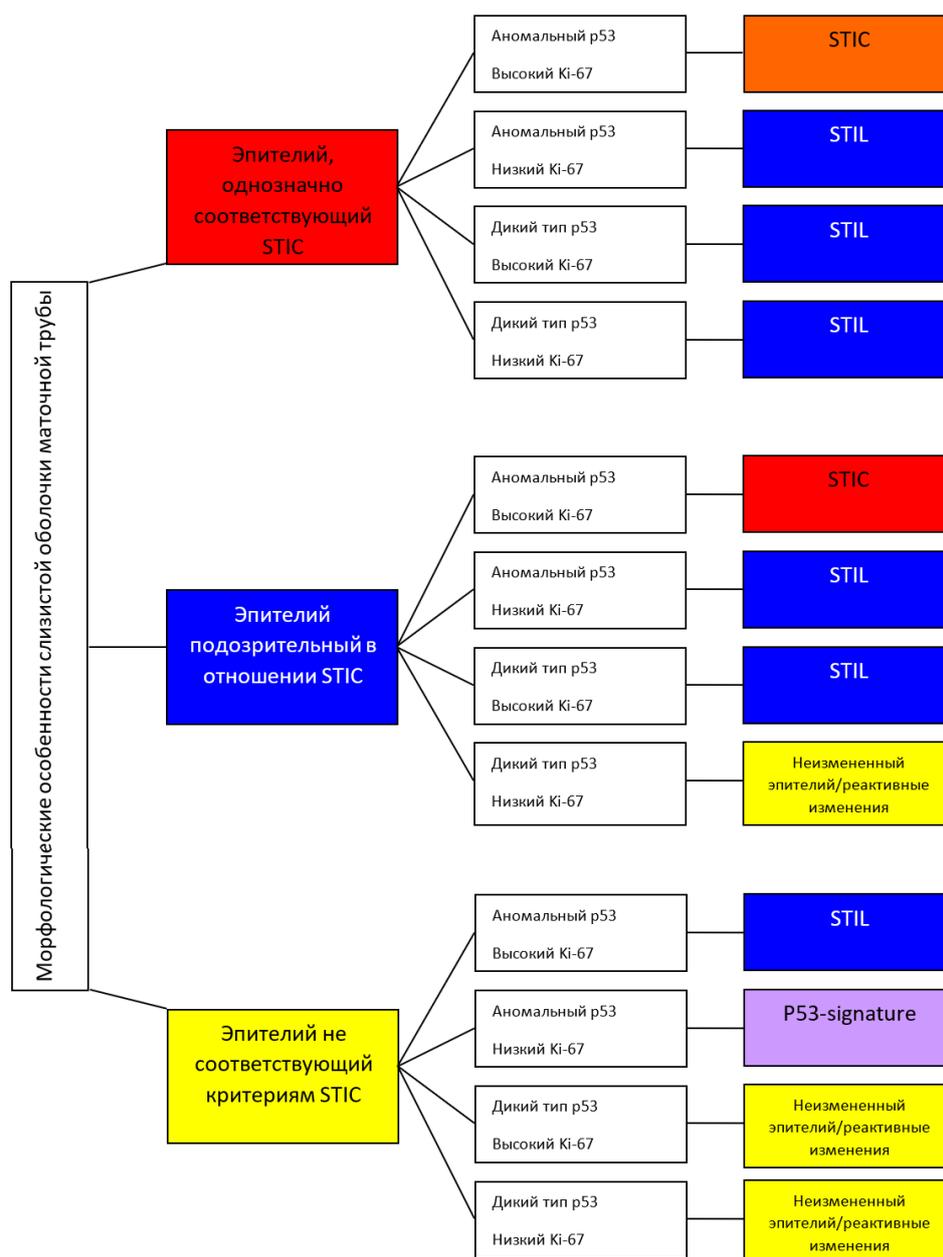
интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы (рис. 3) [434].

Серозная интраэпителиальная карцинома слизистой оболочки маточной трубы (англ. serous tubal intraepithelial carcinoma – STIC) характеризуется различными вариантами пролиферации эпителия слизистой оболочки маточной трубы (включая потерю клеточной полярности и гиперхромную ядер клеток), полиморфизмом клеток, неправильной формой контура просвета маточной трубы, внутриэпителиальными «трещинами», увеличением размеров ядер и их округлением, что сопровождается повышением ядерно-цитоплазматического соотношения, изменением ядерного хроматина (гиперхромазия или везикулярное строение ядер), выраженными ядрышками в ядре клеток, фигурами митоза и апоптотическими тельцами [436]. Однако, следует отметить, что единое мнение в отношении критериев STIC отсутствуют.

Существует широкая вариабельность в постановке диагноза STIC. Воспроизводимость диагнозов, поставленных с использованием только препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, находится на низком/среднем уровне (коэффициент воспроизводимости  $k$  от 0,39 [159] до 0,45 [378]).

Применение дополнительных методов исследования (ИГХ с оценкой экспрессии p53 и Ki-67) повышает воспроизводимость диагноза (до 0,62) [159], а при применении специально разработанного алгоритма – до 0,73 (рис. 3) [434].

Таким образом, для постановки диагноза «STIC» необходимо наличие эпителия, который соответствует данному поражению или подозрителен в отношении него, а также обладает аномальной экспрессией p53 и высоким пролиферативным индексом.

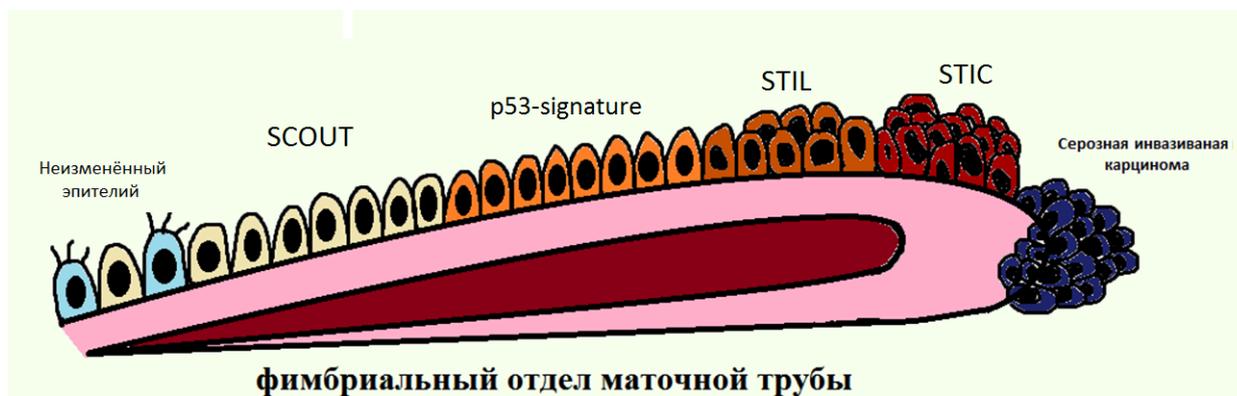


**Рисунок 3.** Алгоритм диагностики STIC, STIL, p53-signature (цит. по: Vang R. et al., 2012) [434] **Ошибка! Источник ссылки не найден.**

Несмотря на то, что исследователи возлагают большие надежды на применение данного алгоритма и, в частности, оценку уровня экспрессии p53, они указывают, что данный маркер не обладает достаточной чувствительностью в случае наличия нуль-мутаций. Так, было установлено отсутствие экспрессии p53 в 40% STIC [406]. Поэтому, актуальность поиска дополнительных маркеров для ИГХ-диагностики STIC не вызывает сомнения.

Кроме того, выявление выраженной экспрессии определенных белков в STIC может способствовать более глубокому пониманию биологического значения данного поражения [275, 400].

Последовательное развитие интраэпителиальной патологии слизистой оболочки маточной трубы представлено на **рис. 4**.



**Рисунок 4.** Один из вариантов патогенеза STIC (цит. по: Kurman R.J., Shih I.-M., 2016) [257]

Отдельно следует остановиться на последовательности и особенностях молекулярно-генетических изменений в процессе развития серозных карцином яичника, поскольку данная информация является необходимой для правильного понимания не только патогенеза рассматриваемых опухолей, но и основ современной классификации.

Следует напомнить, что ключевыми мутациями в патогенезе HGSC являются мутации в генах *TP53*, *BRCA1/2* (около 95% и 22% соответственно) [134, 282, 295]. Не более, чем в 6% опухолей также наблюдаются мутации в генах *RB1*, *NF1*, *FAT3*, *CSMD3* и *GABRA6* [235, 238, 282].

Большинство мутаций *TP53* являются миссенс-мутациями, ведущими к стабилизации поврежденного белка и возможности выявить повышенную экспрессию p53 иммуногистохимически [225, 427]. Однако, в некоторых случаях имеют место инсерции, делеции или затрагивающие терминирующий кодон мутации, что ведет к снижению продукции p53 [132].

Гиперэкспрессия p53 и мутации *TP53* были выявлены в «p53-signature» и STIC [106, 107, 237, 379, 386]. Таким образом, мутация *TP53* в настоящее

время признана одной из наиболее ранних генетических поломок в карциногенезе HGSC.

Несмотря на то, что мутации TP53 являются практически облигатными для развития HGSC, различия в возникновении «p53-signature» между женщинами, у которых была выявлена мутация BRCA, и теми, у кого она не обнаружена, очень незначительные [107]. Это может свидетельствовать о том, что мутации TP53 являются необходимыми, но недостаточными для развития неопластического процесса. Гены BRCA участвуют в репарации ДНК [439] и риск развития HGSC к 70 годам у носительниц данных генов колеблется от 30 до 70% [331].

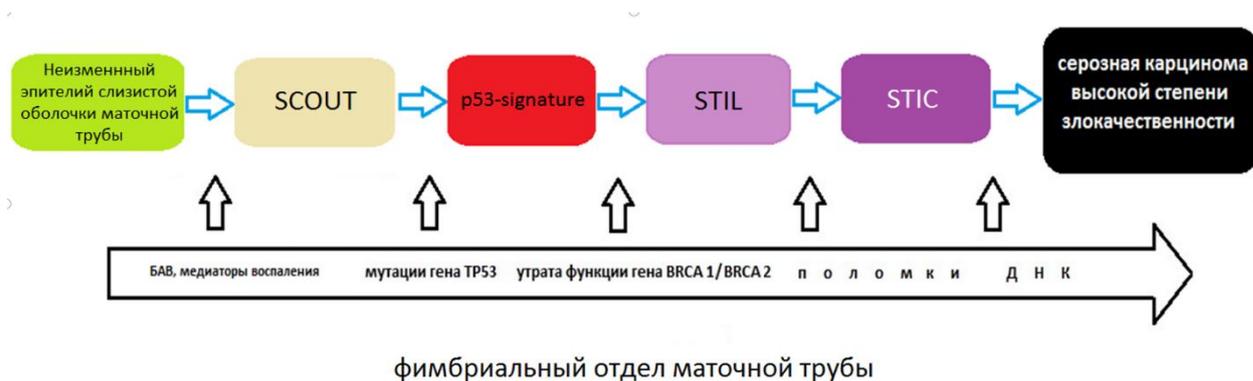
Около 22% HGSC характеризуются соматическими или генеративными мутациями в генах BRCA1 и BRCA 2. Еще около 11% из HGSC характеризуются утратой экспрессии BRCA1 и BRCA2 вследствие гиперметилирования ДНК, поэтому такое эпигенетическое выключение взаимно исключает возникновение BRCA 1 или BRCA 2 мутаций [235]. Известно, что одного аллеля дикого типа BRCA1 или BRCA2 достаточно для функционирования механизма репарации ДНК, для развития карциномы яичника у женщин с генеративной мутацией в генах BRCA1 и BRCA2 необходимо дополнительное возникновение соматической мутации.

Во многих исследованиях было выявлено наличие такой соматической мутации в эпителиальных клетках инклюзионных кист, ПЭЯ, STIC и на ранних стадиях развития серозных карцином в яичниках и маточных трубах женщин, которым была проведена профилактическая сальпингоовариоэктомия, что указывает на потерю функции BRCA, как на ранний этап развития HGSC [40, 66, 310, 413].

Как уже было указано, различие в распространенности «p53-signature» не зависит от наличия мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 [106]. Кроме того, у женщин с герминативной мутацией BRCA1 при анализе «p53-signature» и STIC установлено, что потеря аллеля дикого типа наблюдается на стадии STIC, тогда как для участков маточной трубы типа «p53-signature» она не

свойственна [413]. Эти данные подтверждают, что потеря функции *BRCA1* и/или *BRCA2* не является необходимой для развития p53-signature и служит более поздним событием в карциногенезе HGSC, чем мутация TP53 [301, 432].

Таким образом, в патогенезе HGSC были выявлены несколько последовательных этапов, для каждого из которых характерны определенные молекулярно-генетические нарушения, последовательность которых представлена на **рис. 5**.



**Рисунок 5.** Патогенез серозных карцином яичника высокой степени злокачественности (цит. по: Li J. et al., 2012) [312]

### 1.1.1.2. Патогенез серозных карцином яичника низкой степени злокачественности, серозных пограничных опухолей и серозных цистадном

К настоящему времени накоплено много доказательств постепенного развития серозных карцином яичника низкой степени злокачественности (LGSC) из цистаденомы/аденофибромы, которые трансформируются в пограничные серозные опухоли, неинвазивные микропапиллярные серозные карциномы низкой степени злокачественности и, наконец, в инвазивные серозные карциномы низкой степени злокачественности [3, 255, 367].

Постепенное развитие LGSC из доброкачественных предшественников подтверждают и генетические исследования, мутации генов *KRAS* и *BRAF* обнаружены в клетках 60% пограничных серозных опухолей [253] и в 86% участков, имеющих морфологические признаки доброкачественной серозной

опухоли, которые прилежат к KRAS/BRAF-позитивным пограничным опухолям [133, 437]. В доброкачественных серозных опухолях данные мутации отсутствуют [251, 316].

В соответствии с концепцией развития эпителиальных опухолей из ПЭЯ, которая будет более подробно рассмотрена ниже, HGSC развиваются в результате метаплазии эпителия инклюзионных кист, которые выстланы эпителием, подобным ПЭЯ [121, 196, 314].

В то же время сторонники концепции происхождения HGSC из эпителия слизистой оболочки маточной трубы также пытались проследить трансформацию инклюзионных кист, выстилка которых имела фенотип слизистой оболочки маточной трубы, в серозные пограничные опухоли, сравнивая содержание реснитчатых клеток в инклюзионных кистах, серозных цистаденомах, в серозных пограничных опухолях и LGSC. Было отмечено последовательное снижение содержания таких клеток при переходе от менее к более тяжелым поражениям и увеличение соотношения секреторных/реснитчатых клеток.

Данное наблюдение, по мнению исследователей, может подтверждать клональную экспансию секреторных клеток, что характерно и для HGSC [260]. Указывается, что именно на территории инклюзионных кист с мюллеровым фенотипом выстилающего эпителия и происходит последовательное развитие сначала серозных цистаденом яичника, в дальнейшем – серозных пограничных опухолей и, наконец, серозных карцином низкой степени злокачественности (**рис. 6**).



**Рисунок 6.** Патогенез серозных карцином яичника низкой степени злокачественности (цит. по: Li J. et al., 2012) [312]

С генетической точки зрения LGSC являются относительно стабильными, для них характерны различные мутации, связанные со специфическими сигнальными путями, включая гены KRAS и BRAF, мутации гена TP53 наблюдаются редко. Таким образом, согласно данным литературы, более половины серозных пограничных опухолей и LGSC имеют мутации в генах KRAS, BRAF или ERBB2.

Мутации KRAS или BRAF обнаружены и в доброкачественных цистаденомах, свидетельствуя о том, что они являются предшественниками серозных пограничных опухолей и LGSC [292]. Кроме того, с помощью полного анализа профайлинга генов было показано, что при прогрессии пограничных опухолей в LGSC с микропапиллярными структурами наблюдается постепенное увеличение хромосомной нестабильности, хотя ее уровень все равно не сопоставим с таковым, наблюдаемым при LGSC [276].

Следует отметить, что ряд HGSC, как полагают некоторые исследователи, развивается из LGSC, однако механизм данной трансформации до конца не изучен. Нельзя исключить, что изменение морфологических и молекулярных свойств опухоли на данном этапе связано с процессом дедифференцировки LGSC.

### **1.1.2. Концепция происхождения серозных опухолей яичника из поверхностного эпителия яичника**

Как для концепции происхождения серозных опухолей из эпителия слизистой оболочки фимбриального отдела маточной трубы, так и для данной концепции патогенеза весьма важным является представление о гистологическом составе и биологической роли поверхностного эпителия яичника.

В яичниках взрослых женщин ПЭЯ представляет собой однослойный эпителий, состоящий из клеток от уплощенных до кубических, для которых характерна экспрессия только N-cadherin, тогда как экспрессия E-cadherin отсутствует. В этом отношении ПЭЯ отличается от эндометрия, эндоцервикса и эндосальпинкса [147, 231]. Таким образом, экспрессия E-cadherin в ПЭЯ может рассматриваться, как признак метаплазии/неоплазии [125].

Известно, что экспрессия E-cadherin, которая является маркером мюллеровой дифференцировки, в организме женщины находится под контролем стероидных гормонов и, кроме того, является индуктором клеточной дифференцировки. ПЭЯ отделен от подлежащей стромы базальной мембраной, располагающейся под ней плотной, богатой коллагеном соединительной тканью (tunica albuginea). От других типов эпителиальной выстилки ПЭЯ отличается неплотной связью с подлежащей базальной мембраной, от которой он легко отделяется даже при очень слабом механическом воздействии [314].

Известно, что в перименопаузальном возрасте в яичнике усиливается процесс инвагинации ПЭЯ в подлежащую ткань и формирование инклюзионных кист коркового вещества, имеющих соответствующий фенотип.

Относительно инклюзионных кист, выстланных кубическим эпителием, в более ранних работах было высказано предположение, что такие кисты формируются в результате замещения ПЭЯ места разрыва фолликула.

Однако, было установлено, что инклюзионные кисты чаще формируются в яичниках с меньшим числом овуляций (у женщин, имеющих нескольких детей) и женщин с синдромом поликистозных яичников (отсутствием овуляторных циклов). В связи с этим, высказано предположение что у таких женщин инклюзионные кисты формируются вследствие адгезии ПЭЯ над местом инвагинации и локальной пролиферации стромального компонента [369]. Известно, что в перименопаузе в яичнике усиливается процесс инвагинации ПЭЯ в подлежащую ткань и формирование инклюзионных кист коркового вещества. Большинство исследователей, независимо от той концепции патогенеза эпителиальных опухолей яичника, которой они придерживаются, согласны с тем, что именно инклюзионные кисты являются одним из основных мест локализации ранних предшественников карцином яичника, поэтому изучению эпителиальной выстилки инклюзионных кист посвящено в последнее десятилетие значительное число исследований [127, 231, 273].

Исследователи придерживаются разных мнений относительно природы цилиндрического эпителия инклюзионных кист, имеющего трубный фенотип, для которого характерна экспрессия маркеров, присущих дериватам мюллерова тракта. Одни считают, что имеет место метаплазия ПЭЯ [300, 444], другие не исключают его происхождения из эпителия слизистой оболочки маточной трубы [176, 431].

**Функция ПЭЯ.** ПЭЯ осуществляет транспорт различных биологически активных веществ из брюшной полости в яичник и из яичника в брюшную полость и принимает участие в выходе созревшей яйцеклетки из яичника и репарации постовуляторного разрыва на поверхности яичника. Большинство функций яичников являются гормонозависимыми, различаются в разные фазы менструального цикла и разные возрастные периоды жизни женщины [314].

Известно, что ПЭЯ подвергается пролиферации в связи с репаративным процессом в области постовуляторного дефекта и пик пролиферативной активности ПЭЯ приходится на время овуляции [168].

Указывают также, что ПЭЯ содержат включения подобные лизосомам и продуцируют протеолитические ферменты, участвующие в разрыве фолликула [129, 348]. Кроме того, они принимают участие в восстановлении коркового вещества яичника с помощью синтеза эпителиальных и мезенхимальные компоненты экстрацеллюлярного матрикса [140, 269], а также благодаря своей сократительной активности (фибробластоподобные свойства ПЭЯ).

Как и фибробласты, которые превращаются в миофибробласты в процессе репарации ткани, ПЭЯ в культуре клеток содержат гладкомышечный актин, что согласуется с известной двойственной природой клеток ПЭЯ, которые могут приобретать как эпителиальный, так и мезенхимальный фенотип (рассматривается ниже). Сократительная способность ПЭЯ, возможно, имеет значение в инволютивных изменениях яичника в постменопаузе и в формировании инвагинаций и инклюзионных кист.

**Дифференцировка ПЭЯ.** Неизменный ПЭЯ в период между овуляциями является стационарным мезотелием, обладающим, как эпителиальными, так и мезенхимальными свойствами. В ответ на стимулы, инициирующие репаративный процесс, ПЭЯ приобретает фенотипические особенности стромальных клеток. Приобретение же клетками ПЭЯ эпителиальных свойств, характерных для производных Мюллера протока, хотя и не поддерживается некоторыми исследователями [127], однако, экспериментальные данные и исследования, показавшие наличие прогениторных свойств ПЭЯ [124, 201, 313, 440], позволяют предположить возможность метаплазии ПЭЯ в различные типы эпителиев (слизистой тела матки, слизистой оболочки маточной трубы и эндоцервикса). Что касается эпителиа инклюзионных кист, то полученные данные клетки утрачивают двойственные свойства, присущие ПЭЯ. Известно, что эпителиально-

мезенхимальный переход является физиологическим процессом для ПЭЯ, в котором активное участие принимает фактор роста фибробластов [314, 385].

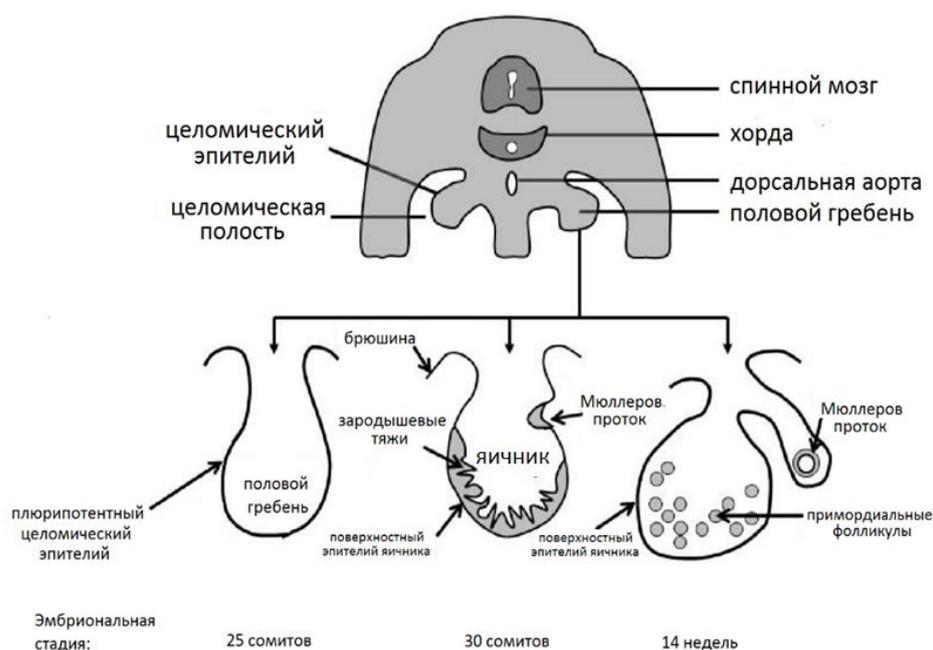
Вместе с тем, сторонниками концепции происхождения карцином яичника из ПЭЯ рассматривается потенциальная возможность метапластических изменений ПЭЯ в качестве начального этапа неопластической трансформации последнего и раннего этапа карциногенеза.

#### **1.1.2.1. Концепция происхождения HGSC из поверхностного эпителия яичника**

Опираясь на вышеописанные данные, сторонники концепции происхождения карцином яичника из ПЭЯ предполагают, что клетки ПЭЯ в результате репарации дефекта после овуляции или инвагинации в корковое вещество яичника формируют инклюзионные кисты, эпителий которых под действием стромальных факторов может подвергаться неопластической трансформации, а в результате возможности ПЭЯ к эпителиально-мезенхимальному переходу, было высказано предположение, что клетки ПЭЯ могут агрегироваться в строме и давать начало карциномам яичника

В качестве доказательства данной концепции приводятся следующие доводы.

*Эмбриологический аспект.* Известно, что эмбриональным источником маточных труб является Мюллеров тракт, в то время как ПЭЯ является модифицированным мезотелием. При этом, обычно не уделяется достаточного внимания тому факту, что Мюллеров тракт также имеет мезотелиальное происхождение, поскольку происходит из того же плюрипотентного эмбрионального целомического эпителия, который в конечном итоге дифференцируется в перитонеальную выстилку различных полостей [122]. На ранних этапах развития Мюллеров тракт формируется, как инвагинации или складки целомического эпителия, покрывающего мезонефрос, который прилежит к развивающемуся яичнику (**рис. 7**) [351].



**Рисунок 7.** Схематическое изображение этапов эмбрионального развития яичника и Мюллерова протока

Кроме того, стоит отметить, что и ПЭЯ, и Мюллеров тракт не только имеют общих предшественников, но и области, в которых располагаются их эмбриональные зачатки, лежат очень близко друг к другу. Этот факт позволяет предположить, что они изначально принадлежат к одной плюрипотентной целомической области и обладают схожим потенциалом к развитию по различным путям дифференцировки [121, 314]. Столь близкие взаимоотношения в процессе эмбрионального развития между ПЭЯ и фимбриальным эпителием маточной трубы может объяснить, почему метаплазия и неоплазия ПЭЯ ведут к формированию именно Мюллерова фенотипа клеток, а не какого-либо другого.

*Возможность метаплазии ПЭЯ.* Известно, что для способности к метаплазии клетки эпителиального слоя должны сохранять свойства, присущие стволовой/прогениторной клетке, включая и плюрипотентность.

Существует множество доказательств того, что ПЭЯ может обладать такими свойствами, включая экспрессию таких важных маркеров недифференцированных клеток как транскрипционные факторы *Okt4* и *NANOG* [205, 209, 297, 313]. Кроме того, общеизвестен тот факт, что ПЭЯ

способен структурно и функционально перестраиваться в клетки с фибробластоподобным фенотипом под воздействием изменения микроокружения и факторов роста [181, 314].

Также потенциальная возможность ПЭЯ подвергаться метаплазии была продемонстрирована при наблюдении трансформации плоского эпителия в цилиндрический, сопровождающейся не только изменением морфологии эпителия [300], но и его функции. Это подтверждалось появлением экспрессии маркеров, присущим как ПЭЯ, так и слизистой оболочке маточной трубы (E-cadherin, Epcam, гликопротеина OVGP1) в цилиндрических клетках в пределах одной инклюзионной кисты [122].

При изучении инклюзионных кист в яичниках с сопутствующей серозной неоплазией в выстилающем эпителии была выявлена экспрессия транскрипционного фактора PAX 8, характерная для секреторных клеток маточной трубы и опухолевой ткани серозных карцином. Причем, наличие экспрессии PAX 8 отмечали не только в клетках с фенотипом, характерным для слизистой оболочки маточной трубы, но и в плоских клетках, схожих с ПЭЯ.

Кроме того, клетки, в которых экспрессию PAX8 не выявляли, соседствовали с PAX8-позитивными клетками, что свидетельствует в пользу возможной метаплазии ПЭЯ [316]. Данные наблюдения свидетельствуют о том, что наличие в инклюзионных кистах эпителия с фенотипом слизистой оболочки маточной трубы можно объяснить не только слушиванием эпителиальных клеток с поверхности слизистой оболочки маточной трубы, их имплантацией и погружением в корковое вещество яичника [121], но и метаплазией ПЭЯ.

Следует также учитывать тот факт, что ПЭЯ теряет свои мезенхимальные характеристики STIC при инвагинации ПЭЯ в корковое вещество и формировании инклюзионных кист. Это может свидетельствовать о том, что клетки ПЭЯ, попадая в другое (стромальное) микроокружение,

подвергаются значительным изменениям, которые потенцируют различные стромальные биологически активные вещества.

Последние могут модифицировать клеточную дифференцировку и играть роль в неопластической трансформации эпителия, выстилающего инклюзионные кисты. Источником подобных БАВ может служить также секрет, содержащийся в самих инклюзионных кистах. Известно, что ПЭЯ в норме синтезирует множество активных БАВ, включая цитокины (IL-1, IL6, M-, G-, and GM-CSF), факторы роста (TGF-beta, TNF-alpha) и гормоны (ингибин) [172, 314]. Эти агенты при экскреции ПЭЯ с поверхности яичника распространяются в брюшной полости в норме, но внутри инклюзионных кист они могут достигать высоких концентраций, в значительной степени потенцирующих их эффект.

*Наличие предшественников серозных карцином в яичнике.* Обычно, сторонники концепции происхождения серозных карцином из слизистой оболочки маточной трубы игнорируют данные исследований, подтверждающих наличие предшественников серозных карцином в яичнике [436]. Однако, опубликовано немало работ, подтверждающих, что они все-таки существуют, в том числе, и у женщин-носителей BRCA1 мутаций. Впервые такие изменения эпителия с мезотелиальным фенотипом, описанные R. Scully [211, 369], выявили диспластические изменения эпителия, а также опухолевые клетки карциномы на начальных стадиях, прилежащие к неизменному ПЭЯ, выстилающему инклюзионные кисты.

Данные о пренеопластической трансформации ПЭЯ были также получены на молекулярном уровне. Так, в морфологически измененном и прилежащем к нему неизменному ПЭЯ были выявлены изменения сигнального пути PI3K/Akt, утрата базальной мембраны и экспрессии супрессора опухолевого роста Dab2, гиперэкспрессия COX-2 [178] и др.

Также, что особенно важно, в неизменном ПЭЯ и в ПЭЯ, прилежащем к диспластически измененным участкам и карциномам было выявлено изменение экспрессии p53, что в ряде случаев сопровождалось наличием

мутаций в гене TP53 [211]. Такие изменения можно рассматривать в качестве аналога p53-signature, которые выделяют в качестве предшественника серозных карцином в маточной трубе [107].

Возможно, одним из главных аргументов против ПЭЯ как источника HGSC является тот факт, что признаки неопластического процесса на ранних стадиях обнаруживаются в яичнике довольно редко, несмотря на то, что HGSC является наиболее распространенных злокачественных опухолей яичника. В связи с этим, противники данной концепции полагают, что если и существуют HGSC, происходящие из ПЭЯ, то доля их ничтожно мала.

Обычно исследователи, придерживающиеся такой точки зрения, склонны полагать, что такое незначительно число выявляемых в яичнике HGSC на ранних этапах можно объяснить тем, что их источник находится в маточной трубе и прямым предшественником HGSC является STIC [312].

В то же время немаловажным фактором является то, что при одновременном обнаружении HGSC в яичнике и STIC в маточной трубе, опухоль в яичнике достигает значительных размеров и распространяется на прилежащие ткани, в то время как величина поражения в маточной трубе весьма мала. Сторонники концепции происхождения HGSC из слизистой оболочки маточной трубы объясняют это тем, что клетки из области STIC обладают медленным неинвазивным ростом пока располагаются в маточной трубе, и приобретают агрессивные свойства, попадая в микроокружение стромы яичника (вероятно, в результате различных биологически активных веществ, точное действие которых пока до конца не изучено) [137].

В то же время, если предположить, что предшественник HGSC все-таки располагается в инклюзионных кистах коркового вещества яичника, выстланных мезотелием, то клетки эпителиальной выстилки начинают подвергаться воздействию таких биологически активных веществ очень быстро и, таким образом, период существования самых ранних предшественников HGSC в яичнике очень мал в отличие от STIC, которые могут долгое время

присутствовать в маточной трубе без существенной прогрессии. Таким образом, верифицировать ранние этапы HGSC в яичнике гораздо сложнее.

***Неопластическая трансформация ПЭЯ***  
***(экспериментальные данные)***

Целый ряд экспериментальных моделей позволили продемонстрировать, что ПЭЯ способен выступать источником HGSC. В тех исследованиях, в которых использовались грызуны в качестве биологических моделей, опухоли развивались, как из клеток ПЭЯ [197, 233, 313], так и из клеток слизистой оболочки маточной трубы [109].

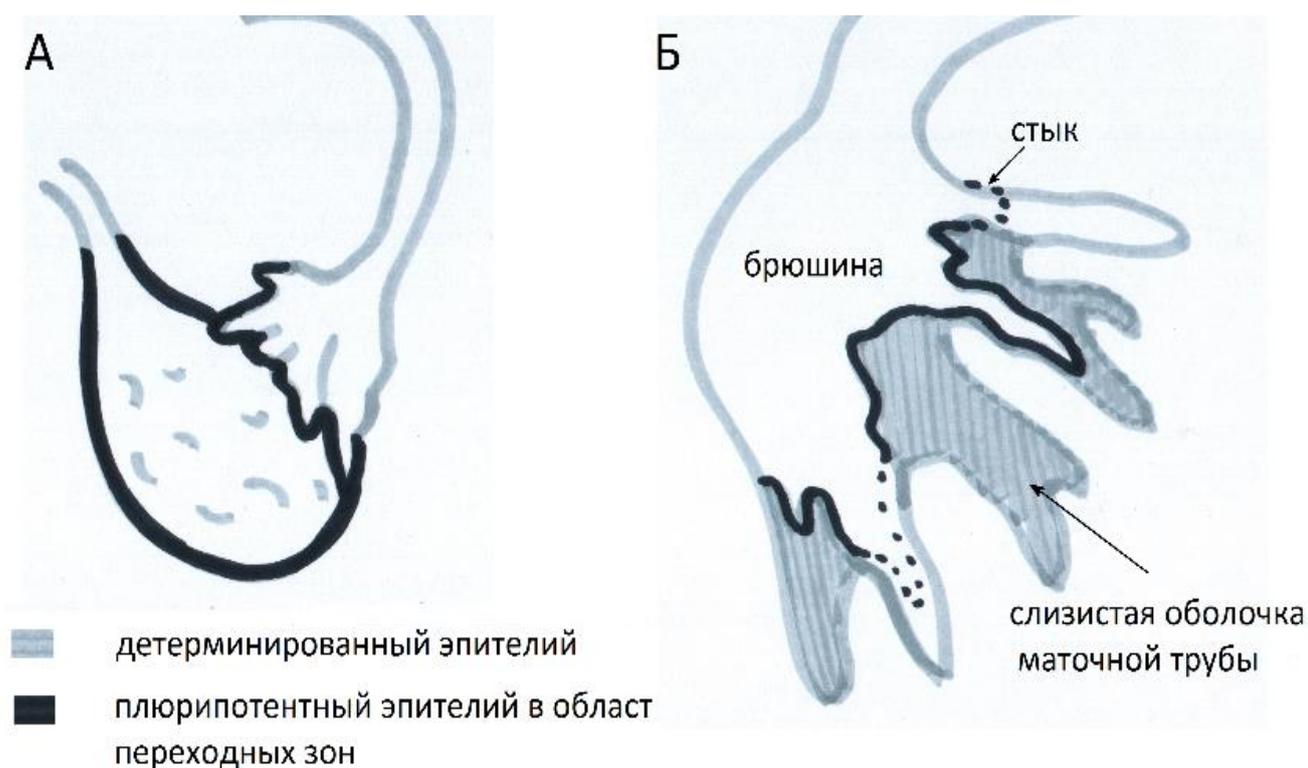
HGSC также были получены на клеточных культурах из клеток человеческого ПЭЯ [447].

Таким образом, можно заключить, что HGSC могут развиваться как из эпителия слизистой оболочки маточной трубы, так и из ПЭЯ. Однако, вероятно, не все эпителиальные клетки данных типов способны давать начало развитию опухоли. В последние годы был проведен ряд исследований, свидетельствующих о том, что существуют определённые локусы, клетки которых имеют большой потенциал для неопластической трансформации. Полагают, что данные локусы располагаются в переходных областях между яичником, маточной трубой и брюшиной, где имеет место стык двух типов эпителиев. Известно, что похожие области локализуются в месте перехода пищевода в желудок и влагалищной части шейки матки в эндоцервикс и являются местом наиболее частой локализации злокачественного процесса. Таким образом, трубно-перитонеальные, трубно-яичниковые и яичниково-перитонеальные переходные области в настоящее время являются объектом пристального внимания.

Наиболее важным в изучении данных областей является эмбриональный аспект. Известно, что ПЭЯ, эпителий слизистой оболочки маточной трубы и мезотелий брюшины имеют происхождение из эмбрионального целомического эпителия, так называемого эмбрионального мезотелия, который является дериватом мезодермы и выстилает примитивную

перитонеальную и тазовую полости, еще до развития яичников и полового гребня (рис. 7).

Изначально целомический эпителий является в высокой степени плюрипотентным и обладает способностью дифференцироваться в различные ткани и органы. В процессе созревания большая часть плюрипотентного целомического эпителия разделяется на эмбриональные поля, которые вначале перекрывают друг друга, а потом становятся все более и более узкоспециализированными. В то время, как ПЭЯ сохраняет определенную плюрипотентность, другие части целомического эпителия становятся монопотентными, способными дифференцироваться только по одному пути, среди которых мезотелий различных участков перитонеальной полости, ПЭЯ, Мюллеров тракт и его дериваты, мезонефрос и клетки фолликулов яичника (рис. 8).



**Рисунок 8 А.** Схематическое изображение взаимосвязи внеовариальной брюшины, поверхностного эпителия яичника и эпителия слизистой оболочки маточной трубы, имеющие общее эмбриональное происхождение. **Б.** Схематическое изображение стыка мезотелия брюшины, покрывающей маточную трубу и эпителием фимбриального отдела маточной трубы

Важно отметить, что Мюллеров тракт формируется из инвагинаций целомического эпителия в тех участках, где он прилегает к будущему ПЭЯ.

Таким образом, предшественники ПЭЯ и Мюллерова тракта изначально являются частями общего мультипотентного эмбрионального поля. Однако, в то время как дериваты Мюллерова тракта (эпителий маточной трубы, эндометрий, эндоцервикс) становятся четко детерминированными, ПЭЯ остается в более примитивном, мультипотентном состоянии.

Данную концепцию об общности эмбрионального поля для ПЭЯ и фимбриального отдела маточной трубы подтверждают полученные данные об экспрессии маркеров дифференцировки в данных областях [121].

Приведенные выше аргументы, свидетельствующие в пользу происхождения HGSC, как из ПЭЯ, так и из эпителия слизистой оболочки фимбриального отдела маточной трубы, позволяют рассматривать каждый из этих эпителиев в качестве источников HGSC. Объединить эти концепции могла бы концепция переходных областей, в соответствии с которой источник HGSC лежит в месте стыка двух типов эпителия (между мезотелием брюшины, яичником и маточной трубой).

Таким образом, опухоль может развиваться как из клеток ПЭЯ, так и из клеток эпителия маточной трубы, но они должны обязательно локализоваться в переходной области, которая имеет общее для данных типов эпителия эмбриональное развитие и остается менее дифференцированной, чем эпителий остальных участков яичника и маточной трубы. Данное предположение подтверждают экспериментальные данные, в соответствии с которыми возможно развитие идентичных HGSC из клеток ПЭЯ и из эпителия слизистой оболочки маточной трубы, несмотря на их разный фенотип и принадлежность к разным органам.

Для более глубокого понимания строения и функционирования переходных областей мы рассмотрим стыки двух типов эпителия, локализующихся в других тканях и органах, поскольку, как полагают

механизм инициации неопластического роста в данных зонах, имеет множество общих черт.

## **1.2. Эпителиальные переходные области**

Переходные области представляют собой участки, где имеет место стык двух типов эпителия. Таких областей в организме человека несколько, включая переход между роговицей и конъюнктивой, эпителием пищевода и желудка, эпителием желудка и двенадцатиперстной кишки, эндоцервикальным эпителием и многослойным плоским эпителием влагалищной части шейки матки, а также илеоцекальную и аноректальную переходную область. Уже известно, что, по крайней мере, некоторые из этих зон являются триггерными участками для развития неопластического процесса, в том числе с участием вируса папилломы человека.

Об этом говорят многочисленные эпидемиологические наблюдения: в шейке матки плоскоклеточные карциномы локализируются исключительно в области стыка эндоцервикальной и влагалищной части [200, 375,429]. Рак анального канала в три раза чаще возникает в аноректальной переходной области [271]. Плоскоклеточная карцинома глаза часто развивается в области стыка между роговицей и конъюнктивой [392].

Какие именно молекулярные механизмы лежат в основе наибольшей восприимчивости данных областей к развитию злокачественных опухолей до сих пор до конца не известно. Определенное морфологическое строение эпителиальной выстилки и ее локализация объясняют отличительные свойства, присущие тому или иному типу эпителия, такие как определенные сигнальные пути, работающие в эпителиоцитах и поверхностные маркеры, которые они экспрессируют.

Кроме того, внутриэпителиальные изменения, которые происходят в переходных областях, также являются специфическими для каждой из них. Это связано определенными повреждающими факторами, которые выступают триггерами злокачественной трансформации эпителия и чаще всего имеют локальное происхождение. Следует отметить, что переходные области могут

выступать и в качестве ниш мультипотентных клеток. В этом случае они представляют ключевую зону клеточной трансформации, поскольку являются местом аккумуляции генетических изменений клеток и вирусного воздействия на них, что в конечном итоге приводит к развитию опухоли.

Таким образом, для понимания механизмов карциногенеза, имеющих место в переходных областях, прежде всего, следует опираться на морфологические особенности их эпителиальных клеток. Наиболее частой переходной областью является стык между многослойным плоским эпителием и простыми однослойными типами эпителия. Многослойный плоский эпителий представляет собой эпителий, базальные слои которого обладают высокой митотической активностью для обновления поверхностных слоев, в то время как поверхностные слои подвержены частому слущиванию. В целом, повреждаемость многослойного плоского эпителия весьма высока, поэтому для обновления данной ткани необходимо наличие мультипотентных клеток. Среди однослойных эпителиев, стык с которыми можно наблюдать в переходных зонах, можно выделить плоский эпителий, цилиндрический или кубоидальный.

Визуализация переходных областей не представляет трудности – два типа эпителия, встречающихся в данной области, обладают не только различным гистологическим строением, но и проявляют разную экспрессию одних и тех же биологически активных компонентов [224, 241, 327].

Помимо различительной роли такая дифференцировка играет и важную биологическую роль. Так, например, в аноректальной переходной зоне локализуется меньше десмосом (межклеточных контактов ответственных за плотное межклеточное приращение), чем в анальных клетках, контактирующих друг с другом вне переходной зоны. В аспекте карциногенеза более слабые межклеточные контакты могут облегчить миграцию и инвазию в слизистую оболочку злокачественных клеток [158].

Помимо различия непосредственно в свойствах эпителиоцитов следует учитывать и важнейшую роль микроокружения переходных областей при

любой локализации. Было проведено несколько исследований, которые выявили влияние внутриклеточных сигнальных путей на биологию переходной области, что вело к развитию опухоли (в том числе, включающие такие компоненты, как *Vmp1a-receptor*, *TGF-beta-receptor*) [130].

В то же время было показано, что в других областях с включением тех же типов эпителиальных клеток, но за пределами переходной области, для развития опухоли того же гистотипа требовались дополнительные мутации (*H-Ras*, *K-Ras*) [270]. Эти данные могут свидетельствовать о том, что клетки в переходных областях имеют изначально более высокий потенциал к злокачественной трансформации. Кроме того, клетки микроокружения, возможно, более восприимчивы к сигналам трансформированных клеток и, в свою очередь, могут существенно влиять на клеточный рост и дифференцировку последних [148].

Проведенные в последнее время исследования выявили, что эпителий, обнаруживаемый в переходных областях, проявляет свойства, которые демонстрирует обычный эпидермис во время репарации, воспалении или при предраковых поражениях.

Такие же особенности присущи эпителию пациентов с гиперпролиферативными заболеваниями кожи [364] (вырабатывает такие биологически активные вещества как кератин 17, тенасцин С, интегрин-6) [149, 266, 442].

В других органах также была изучена роль переходных областей в качестве ниши для мультипотентных клеток. Так, в области роговично-радужной переходной зоны были выявлены *labeled retaining cells*, которые экспрессируют такие маркеры мультипотентных клеток, как поверхностный маркер *ABCG2* [366].

Аналогичные клетки, которые экспрессируют маркер мультипотентных клеток *CD 44*, были выявлены и в области эзофаго-гастрального перехода, а также в области перехода влагалищной части шейки матки в эндоцервикса [100].

Проводились исследования экспрессии *labeled retaining cells* в области аноректальной переходной зоны, где были выявлены клетки, позитивные в отношении CD44, онкопротеина p63, тенасцин С, присутствие которых характерно и для других переходных областей [224].

Не вызывает сомнения тот факт, что необходимы дополнительные, в том числе экспериментальные исследования мультипотентности обнаруженных в переходных областях клеток, однако, уже можно утверждать, что место стыка двух типов эпителия является нишей для мультипотентных клеток, поддерживающих гомеостаз в различных органах и тканях.

Таким образом, переходные зоны являются местом с особенной регуляцией сигнальных путей, характерных для того или иного органа. В этой области эпителиальные клетки отличаются от клеток, принадлежащих к данному типу эпителия, но, расположенных вне области стыка. Кроме того, переходные области находятся в местах постоянного повреждения и действия различных видов стресса (воспалительного, оксидативного, гормонального и пр.), что является триггерным фактором для возникновения мутаций. Сохранение же данных мутаций и инициация опухолевого роста возможна благодаря локализации мультипотентных клеток в области переходных областей, где в норме эти клетки отвечают за поддержание целостности ткани и возобновление популяции эпителиоцитов.

Таким образом, можно предположить, что до настоящего времени малоизученные переходные области придатков матки также могут являться источником происхождения опухолей, в том числе, и серозных карцином высокой степени злокачественности.

К этим областям относится, во-первых, трубно-перитонеальная переходная зона, в которой имеет место стык мезотелия брюшины и высокого цилиндрического эпителия слизистой оболочки маточной трубы; во-вторых, трубно-яичниковая, в которой в месте, так называемой, «яичниковой фимбрии» происходит стык эпителия слизистой оболочки маточной трубы и поверхностного эпителия яичника; и, в-третьих, яичниково-перитонеальная,

где встречаются поверхностный эпителий яичника и мезотелий брюшины. Данные зоны будут подробно изучены в рамках настоящего исследования для описания их морфологии, выявления предраковых поражений и локализации мультипотентных клеток.

Изложенные выше факты дают представление о современном понимании патогенеза серозных карцином яичника.

Существенное изменение в данной концепции в какой-то степени может объяснить неэффективность разработанных еще до ее появления методов диагностики данных опухолей.

Но, прежде чем рассмотреть появившиеся новые векторы для разработки иных, более эффективных методов, следует вкратце описать инструменты, имеющиеся в настоящее время в арсенале клинических специалистов.

### **1.3. Современные методы скрининга и диагностики серозных карцином яичников**

#### **1.3.1. Традиционные биомаркеры**

- СА-125 это онкомаркер, который был открыт более 30 лет назад и наиболее широко используется для диагностики рака яичников до настоящего времени. Повышение сывороточного уровня данного белка выше референсных значений (35 ед./мл у женщин) свидетельствует о высокой вероятности обнаружения злокачественной эпителиальной опухоли яичника [1,55,75, 380].

Повышение СА-125 выявляют у приблизительно 75% пациенток с раком яичников, прежде всего, с серозной карциномой. Однако, будучи избирательным в отношении гистотипа опухоли данный маркер не обладает чувствительностью на ранних стадиях заболевания, что существенно снижает эффективность его применения, поскольку большинство серозных раков обладают высокой агрессивностью, и симптомы заболевания появляются чаще всего на III-IV стадии. Кроме того, возможны ложноположительные

результаты теста на СА-125, так как повышение уровня данного белка в крови может быть выявлено при различных доброкачественных опухолях женской половой системы и даже при неопухолевых заболеваниях.

Помимо СА-125 выявлено не менее 200 потенциально эффективных онкомаркеров, уровень которых был достоверно ниже или выше в крови пациенток с карциномами яичника, чем у здоровых женщин. Некоторые из этих маркеров связаны с процессами роста и ангиогенеза опухоли, другие – с процессом метастазирования, инвазии, нарушения иммунного ответа.

Однако, ни один из этих маркеров не превзошел по эффективности СА-125 для диагностики ранних этапов развития опухоли [108, 305]. Эти отрицательные результаты дают основание предположить, что поиск онкомаркеров, связанных с биологией опухоли на этапе ее активного роста, не является эффективным и новые маркеры должны улавливать развитие предраковых поражений еще до инвазии опухолевой ткани в подлежащую ткань [7, 11, 16, 24, 27, 105].

Потенциально эффективным маркером, изучение которого начато совсем недавно, можно назвать протеин Z, изменение уровня которого было зафиксировано у женщин, отобранных для исследования методов скрининга рака яичников в Великобритании (UKCTOCS) еще до постановки диагноза.

Однако, большей эффективностью измерение данного маркера обладало в отношении опухолей I типа (с низким потенциалом злокачественности). Объяснить это можно тем, что повышение уровня протеина Z отражает, скорее всего, этап развития опухоли на территории яичника, когда она имеет очень малый размер и ее нельзя выявить другими рутинными методами. Малое количество опухолей II типа, выявленных с помощью протеина Z на ранней стадии, может свидетельствовать о том, что предраковые поражения в маточной трубе с помощью данного метода выявить не удавалось [344].

### 1.3.2. Комбинированные методы диагностики

К таким методам можно отнести одновременное исследование онкомаркеров в крови пациенток и выполнение ультразвукового исследования [6, 27, 53, 79, 102, 112]. К одним из первых таких исследований относится программа скрининга рака простаты, легких, колоректального рака и рака яичников PLOS (Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial). В рамках данной программы отбирали женщин в возрасте от 55 до 74 лет ( $n=34261$ ), которые рандомизированно были разделены на группу, не проходящих скрининг и ежегодно проходящих УЗИ и исследование СА-125 в крови. К сожалению, все случаи выявленного рака яичников в ходе исследования относились к запущенным стадиям. Как показали результаты этого исследования, смертность от рака яичников не была снижена при применении данной программы скрининга. И, хотя выявляемость рака яичников была выше, зарегистрировано более 3000 ложноположительных результатов, многие пациентки были прооперированы по поводу доброкачественных опухолей и неопухолевых процессов (излишние хирургические вмешательства, повлекшие за собой постоперационные осложнения в 15% случаев) [179]. В рамках исследования PLCO также был изучен уровень дополнительных маркеров в крови, однако, даже их комбинация не привела к достижению большей чувствительности, чем для СА-125 [345].

### 1.3.3. Диагностические алгоритмы

- **РОСА**

Следующей ступенью в совершенствовании методов скрининга рака яичников стала разработка алгоритма оценки риска рака яичников РОСА (Risk of Ovarian Cancer Algorithm). Отличительной чертой данного алгоритма стало измерение так называемого базового уровня СА1 25 и дальнейшая оценка колебаний концентрации этого маркера в крови относительно изначальной позиции. Таким образом, изменения уровня СА-125 и возраст пациентки были

включены в математическую модель, использование которой позволяло вычислить баллы для оценки риска рака яичников [175, 388]. Таким образом, разработчики алгоритма пытались нивелировать ложноположительные результаты, которые были получены при использовании изолированного СА-125. Было высказано предположение, что более характерным для пациенток, страдающих раком яичников, является не столько высокий уровень СА125, сколько его постепенное увеличение.

Результаты, полученные в двух больших исследованиях с использованием алгоритма ROCA, свидетельствуют о значительной специфичности данного теста (99,8%), положительная прогностическая значимость для ROCA составила 35-37%. Однако, после завершения исследования ROCA в программе скрининга рака яичников в Великобритании UKCTOCS (United Kingdom Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening) ROCA не была рекомендована в качестве скринингового теста у женщин, относящихся к группе среднего риска.

Кроме того, несмотря на отмеченное снижение смертности от рака яичников после 7-10 лет применения ROCA, окончательного вывода об общем снижении смертности сделано не было [165, 309].

- **OVA1**

OVA – это диагностический алгоритм, предполагающий исследование пяти маркеров в крови пациенток (СА-125, транстеритин, аполипопротеин А1, beta-2 микроглобулин и трансферрин).

Данный алгоритм был разработан специально для женщин с выявленным образованием в малом тазу, а его использование предполагало определение доброкачественности данного процесса [328]. Исследование более 500 женщин с помощью данного алгоритма позволило выявить 7% карцином яичников, которые были пропущены при исследовании только СА-125 [180].

Данный алгоритм также показал возможность дифференцировать внеовариальные и овариальные опухоли, позволяет выделять различные гистотипы рака яичников и учитывать менопаузальный статус пациенток.

Однако, в качестве скринингового теста данный алгоритм не должен использоваться, показаниями к его применению является наличие объемного образования в малом тазу и показаний к хирургическому лечению [180, 422].

- **ROMA**

Алгоритм ROMA для выявления риска злокачественных образований яичников (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm) предполагает одновременное исследование уровня в СА-125 и HE4 в плазме крови [422].

Чувствительность ROMA находится на уровне 93-94% и данный алгоритм, так же, как и OVA, рекомендован для предоперационной диагностики пациенток с объемными образованиями в малом тазу и не используется для скрининга рака яичников [27, 90, 161, 189, 441].

### **1.3.4. Молекулярно-генетические методы**

#### **1.3.4.1. Анализ герминогенных мутаций BRCA1 and BRCA2**

В последние годы проведено множество исследований, доказавших связь возникновения рака молочной железы и яичников с мутациями в генах BRCA1 и BRCA2. Данные мутации связаны с увеличением вероятности развития рак молочной железы до 60-85%, а рака яичников – до 10% (для BRCA1) и до 26% (для BRCA2) [152, 303, 423] .

Таким образом, программа наблюдения за пациентками с мутациями генов BRCA 1 и BRCA 2 включает регулярное и более частое обследование молочных желез с помощью маммографии, регулярное ультразвуковое исследование малого таза и определение уровня СА125. В некоторых странах таким пациенткам также рекомендовано проведение профилактической сальпингоовариоэктомии при реализации репродуктивной функции или достижения возраста 35-40 лет.

Именно исследование удаленных в результате таких операций маточных труб и яичников стал основой для разработки концепции происхождения HGSC из маточной трубы, так как предраковые поражения маточной трубы были выявлены значительно чаще, чем поражения яичника [20, 171].

Приведенные в данном разделе результаты свидетельствуют о том, что методов эффективной диагностики рака яичников и/или скрининга рака яичников до сих пор не разработано.

Все предложенные методы имеют свои ограничения и не позволяют выявить заболевание на том этапе, когда пациентка может получить радикальное лечение.

Таким образом, применение этих методов не ведет к существенному снижению смертности от рака яичников. Следовательно, необходим поиск принципиально новых подходов к диагностическим алгоритмам, в основе которых будут лежать новые представления о патогенезе рака яичников.

Прежде всего, это означает, что такие методы должны быть направлены не на выявление опухоли яичника, даже если эта опухоль имеет микроскопические размеры, а на детекцию предраковых поражений, локализующихся, в том числе, в маточной трубе.

#### **1.3.4.2. Определение уровня мкРНК в плазме крови**

Еще одним перспективным методом ранней диагностики серозного рака яичников является определение специфических для данного типа опухоли мкРНК, поскольку мкРНК, обеспечивающие регуляцию практически всех процессов жизнедеятельности клетки на молекулярном уровне и обнаруживаемые в разных биологических жидкостях, стабильны и защищены от деградации [412].

Идентификация в плазме крови мкРНК, специфичных для неопластической трансформации эпителия слизистой оболочки маточной трубы и формирования серозной карциномы яичника, может лечь в основу ранней диагностики заболевания и отражать тяжесть его течения.

Важным недостатком работ, проводимых в настоящее время в этой области, является оценка экспрессии определенного набора мкРНК, отбираемых авторами исследования по их потенциальному функциональному значению и/или входящих в состав коммерческих наборов [186, 306, 330],

тогда как спектр мкРНК с измененным уровнем экспрессии представляется более разнообразным.

Более того, для идентификации сигнальных путей патологического процесса необходима информация о белковых мишенях, регулируемых ассоциированными с заболеванием мкРНК.

При этом HGSC, как правило, характеризуется высокой гетерогенностью опухоли и соответствующей геномной нестабильностью [261], изменением статуса метилирования промоторов кодирующих белок генов и некодирующих участков генома, изменением экспрессии белок-кодирующих генов и их посттранскрипционных регуляторов (в том числе, мкРНК), что обуславливает многокомпонентный и многоуровневый патогенез карцином яичника и осложняет поиск маркерных молекул для характеристик этого заболевания.

В частности, HGSC характеризуется мутациями в гене TP53 в 96% случаях в сочетании с соматическими мутациями в генах NF1, BRCA1, BRCA2, RB1, и CDK12, 113 значимыми абберациями числа копий ДНК, изменением статуса метилирования 168 генов и ассоциированной с этими изменениями в геноме дифференциальной экспрессией 253 генов, из которых приблизительно 89% потенциально регулируются целой сетью мкРНК [234, 235].

Таким образом, необходимо более полное и детальное молекулярно-биологическое исследование серозной карциномы яичника для идентификации новых молекул-мишеней, которые послужат основанием для разработки методов ранней диагностики и эффективного терапевтического лечения данного заболевания.

В рамках проекта ENCODE построена объединенная регуляторная МЕТА-СЕТЬ, в которой учтено участие и взаимодействия всех известных регуляторных элементов генома человека, в частности, транскрипционных факторов и мкРНК [214].

МкРНК является новым классом эндогенных некодирующих одноцепочечных коротких РНК длиной около 22 нуклеотидов, которые

регулируют функцию мРНК путем частичного или 100% комплементарного взаимодействия, обуславливающего снижение стабильности мРНК, или ингибирование трансляции соответствующего белка. На сегодняшний день идентифицировано около 1500 мкРНК человека, каждая из которых может участвовать в регуляции сотни генов-мишеней, в то время, как каждый из структурных генов является мишенью для различных мкРНК [214]. Причём, до 60% генов человека теоретически могут регулироваться мкРНК [362].

Большинство мкРНК обладает онкогенной или онкосупрессорной активностью и могут регулировать различные биологические процессы, включая клеточный метаболизм, пролиферацию, апоптоз и химиорезистентность [136, 167, 296]. Поскольку экспрессия мкРНК является тканеспецифичной, детектируется в крови [405] и коррелирует с клиническими проявлениями течения онкологического заболевания [280], мкРНК можно использовать в качестве потенциальных диагностических и прогностических маркеров.

За последние 7 лет многими исследователями предпринята попытка охарактеризовать различные типы карцином яичника по профилю экспрессии мкРНК и регулируемых ими специфических генов-мишеней [153, 213, 263]. Например, были проанализированы профили экспрессии мкРНК в фиксированных в формалине и заключенных в парафиновые блоки 100 тканей серозного рака яичника, а также 50 соответствующих нормальных тканей маточных труб с использованием технологии мкРНК-микрочипов.

Были выявлены 63 мкРНК с пониженным уровнем экспрессии и 43 мкРНК с повышенным уровнем экспрессии в ткани серозного рака яичника, регулирующие, в основном, опосредованные mTOR, Wnt, TGF $\beta$  и MAPK сигнальные пути, участвующие в канцерогенезе [263].

Однако, авторам данной работы не удалось выявить корреляций между уровнем экспрессии дифференциально экспрессированных мкРНК, таких как miR12913p, miR5425p, miR450a5p, miR12923p и miR4245p, и клинико-патологическими параметрами, включая стадию серозной карциномы яичника

по FIGO, метастазирование в региональные лимфатические узлы и отдаленное метастазирование.

В связи с этим, поиск маркерных мкРНК, уровень экспрессии которых отражает тяжесть течения данного заболевания, остается актуальным на сегодняшний день и является одной из приоритетных задач в области молекулярной биологии рака яичников.

В ряде работ было показано, что изменение копийности генов и эпигенетические механизмы регуляции, в том числе, изменение статуса метилирования промоторов генов определяют уровень экспрессии мкРНК при онкологических заболеваниях, в частности, при карциномах яичника [213, 390]. Обнаружено, что более, чем половина идентифицированных мкРНК кодируется нестабильными участками генома, ассоциированными со злокачественными новообразованиями [221]. При этом, потеря копийности генов обуславливают снижение экспрессии 15% мкРНК, а эпигенетическая супрессия – как минимум 36% мкРНК при опухолях яичника.

Методом Taq-Man miRNA assay были проанализированы клеточные линии рака яичника и иммортализованные клеточные линии неизменного поверхностного эпителия яичника и обнаружена различная экспрессия мкРНК, среди которых 88,6% мкРНК имели пониженный уровень экспрессии в клеточных линиях рака яичника, включая опухолевый супрессор let-7d и miR-127 [213].

При сравнительном анализе разных стадий карциномы яичника и разной степени злокачественности в пределах одного (серозного) гистологического типа выявлена дифференциальная экспрессия мкРНК, а именно, обнаружено снижение уровня экспрессии miR-514, -509, -215, -508, -513, -491, -432, -192, -34b на поздней стадии развития рака яичника и miR-508, -509, -514 при высокой степени злокачественности.

Кроме того, исследователями было обнаружено формирование кластеров генов 25 мкРНК с пониженным уровнем экспрессии на поздних стадиях

развития рака яичника в 14, 19 и X-хромосомах, при этом копийность генов коррелировала с уровнем их экспрессии.

Также была выявлена зависимость уровня экспрессии данного спектра мкРНК от статуса метилирования промоторов их генов, в частности, генов *mir-337*, *mir-432*, *mir-495*, *mir-368*, *mir-376a*, *mir-376b*, *mir-377* и *mir-419*, расположенных в кластере 14 хромосомы (домен *Dlk1-Gtl2*).

В ряде работ было показано, что геном опухолевой клетки отличается специфическое *de novo* гиперметилирование регуляторных CpG-островков генов-супрессоров опухолевого роста [242], в связи с этим, профиль метилирования генов в опухолях может быть использован, как маркер для определения типа новообразования, прогноза заболевания и ответа на терапию [213].

Можно отметить, что для генов мкРНК метилирование является более характерным эпигенетическим механизмом подавления экспрессии, чем для кодирующих белок генов. Так, 11,5% всех генов мкРНК подвержены регуляции посредством метилирования (122 из 1048 генов мкРНК по состоянию на 2011 год), для кодирующих белок генов этот показатель составляет 1-2% [185]. С метилированием ассоциировано подавление экспрессии многих генов мкРНК супрессорного типа (*miR-34*, *miR-9*, *miR-129-2*, *miR-148*, *miR-124* и др.).

Над созданием молекулярного портрета HGSC работали многие коллективы исследователей, сопоставляя профили экспрессии мкРНК в карциноме яичника с неизменённой тканью яичников или клеточными линиями, полученными из поверхностного эпителия яичников [38, 136, 213, 278, 350].

Однако, как было изложено выше, согласно современным представлениям о патогенезе серозного рака яичников, основанным на морфологических и молекулярно-генетических исследованиях, одним из источников развития серозных карцином яичника может выступать эпителий слизистой оболочки фимбриального отдела маточной трубы. Поэтому, оправдано использование

ткани фимбриального отдела маточной трубы в качестве контроля при изучении серозной карциномы яичника.

Кроме того, HGSC преимущественно состоят из неопластического эпителия при относительно небольшом содержании стромы, и их сравнение с неизменной тканью яичника, которая содержит преимущественно ткань стромы, не является приемлемым.

Использование культивируемых клеток поверхностного эпителия яичников в качестве контрольной группы также проблематично, так как необходимо подтверждение предположения о том, что профиль экспрессии мкРНК в неизменном поверхностном эпителии яичника не меняется при культивировании.

Важно отметить, что от правильного выбора контрольной группы в значительной степени зависят результаты сравнительного анализа профиля экспрессии генов в исследуемой группе [142].

Таким образом, наиболее актуальным в рамках поиска маркерной мкРНК для ранней диагностики HGSC является сопоставление транскрипционного профиля (экспрессия мкРНК и потенциальных генов-мишеней) опухолевой ткани серозных цистаденом, серозных пограничных опухолей, серозных карцином низкой и высокой степеней злокачественности, эпителия маточной трубы с вариантами интраэпителиальной патологии с транскрипционным профилем нормального эпителия слизистой оболочки фимбриального отдела маточных труб в соответствии с микроскопическими и иммуногистохимическими данными.

### 1.3.5. Жидкостная цитология мазков из маточной трубы

В настоящее время о возможностях цитологического метода при изучении патологии маточной трубы известно немного. Несколько десятилетий назад J. Dudkiewicz были описаны некоторые особенности эпителия слизистой оболочки маточной трубы, полученного при интраоперационной аспирации маточной трубы. Цель исследования заключалась в том, чтобы избежать ошибочной интерпретации эпителиоцитов слизистой оболочки маточной трубы при исследовании рутинных шеечных мазков. Среди визуализированных клеток было выделено 9 классов, что затруднило дальнейшее использование данной классификации из-за ее неудобства и низкой воспроизводимости диагнозов [170].

Небольшое по объему исследование было опубликовано M. Dhanani et al., где авторы описали особенности строения слизистой оболочки маточной трубы при доброкачественных опухолях яичников, миоме матки, патологии эндометрия: во всех случаях было отмечено наличие цилиндрических реснитчатых эпителиальных клеток, в 78% – гиперхроматиновые ядра, однако ядерный плеоморфизм, анизонуклеоз ассоциировались только со злокачественной патологией [156]. Представляет интерес работа D. Lum et al., в которой была описана возможность цитологического исследования эпителия слизистой оболочки фимбриального отдела маточной трубы после взятия материала «катетером-щеткой» при лапароскопии и гистероскопии.

Авторы сравнили результаты при классической и жидкостной цитологии, отметив преимущества последней и выраженные технические сложности, а зачастую невозможность взятия материала при гистероскопии [135]. Кроме того, изучались и цитологические особенности клеток маточной трубы, полученных при прямом соскобе их щеткой. Исследователями было отмечено, что в полученных таким образом мазках клетки могут располагаться в виде групп, похожих на пчелиные соты, в виде полосок и пластов клеток, а также в виде одиночных клеток. Клетки преимущественно имели фенотип высокого цилиндрического реснитчатого эпителия, единственное круглое или

овальное ядро, правильную ядерную мембрану и мелкозернистый хроматин [217].

Кроме описательных наблюдений были и исследования, направленные на разработку цитологической диагностики доброкачественных заболеваний маточных труб, ведущих к бесплодию. В частности, взятие материала щеткой из маточной трубы, как было показано, является хорошим методом получения культурального материала для подтверждения диагноза хламидийного сальпингита [193]. Также было предложено использовать данный метод для подтверждения эндометриоза [119] и анализа распространения по маточной трубе злокачественных клеток при раке эндометрия [288].

Однако, данные исследования проводились еще до получения доказательств возможной роли изменений эпителия слизистой оболочки маточной трубы в развитии серозных опухолей яичника: так, было показано, что STIC является непосредственным предшественником HGSC, а папиллярная гиперплазия маточной трубы может является источником развития серозных пограничных опухолей и далее – LGSC [254]. Поэтому в группы исследования включались в основном пациентки с поражениями маточной трубы и эндометрия, в то время как связь между изменениями эпителия маточной трубы и опухолями яичника не изучалась. Следует, однако, упомянуть тот факт, что цитологическое исследование ткани самой опухоли яичника широко используется в рамках срочной диагностики и зарекомендовало себя как эффективный метод для первичной верификации гистотипа новообразования [61,62].

В то же время, цитологический метод может выступать в качестве метода ранней диагностики рака яичников еще до клинических проявлений, а также на стадии поражения только маточной трубы, до распространения опухолевых клеток на яичник и даже на этапе формирования предраковых поражений, что кардинально отличает данный метод от тех способов диагностики, которые были представлены в предыдущей главе (УЗИ, программы ROCA, OVA1, ROMA).

В зарубежной литературе уже появились первые данные о возможности использования метода цитологической диагностики для скрининга рака яичников, однако, предложенный метод не включает иммуоцитохимическую диагностику, в то время как данное дополнительное исследование помогает более точно верифицировать природу цитологических изменений.

В то же время существуют публикации, подтверждающие эффективность данного подхода в диагностике других злокачественных опухолей. Так, использование иммуоцитохимического исследования экспрессии p53 в мазках, полученных при исследовании билиопанкреатических протоков, способствовало выявлению 87% опухолей [226], при этом, чувствительность метода значительно повышалась при дополнительном иммуоцитохимическом исследовании по сравнению с обычным цитологическим методом (до 88.2%) [419].

Также очень хорошо зарекомендовал себя иммуоцитохимический методов с использованием маркеров p16 и Ki-67 для диагностики интраэпителиальных поражений в шейных мазках [145, 215, 368, 424]. Этот опыт позволяет предположить, что аналогичный алгоритм, разработанный для мазков, полученных из маточной трубы, позволит достичь высоких результатов по выявлению предраковых поражений слизистой оболочки эпителия маточной трубы и стать одним из эффективных методов ранней диагностики серозного рака яичников на ранних стадиях развития.

## **Заключение**

На основании данных литературы, рассмотренных выше можно сделать вывод о том, что различные аспекты заболеваемости, диагностики, лечения и профилактики серозных карцином яичника является остроактуальной проблемой, как в России, так и во всем мире.

В настоящее время по классификации ВОЗ 2014 г. выделяют два типа серозных карцином – высокой и низкой степени злокачественности, которые являются отдельными нозологиями, имеющими различный патогенез,

клиническое течение, гистологические и молекулярно-биологические особенности.

Основные концепции происхождения серозных карцином – из поверхностного эпителия яичников и эпителия слизистой оболочки маточной трубы имеют самостоятельное значение и не исключают друг друга, поэтому для понимания полной картины патогенеза данных опухолей необходимо их объединение.

Одним из способов такого объединения может стать разработка концепции происхождения серозных карцином из клеток переходных областей, локализующиеся в области придатков матки, так как во многих других органах переходные области, в которых происходит стык двух типов эпителия, представляют собой так называемые «горячие точки карциногенеза».

Определение источников происхождения серозных карцином помимо разработки современной концепции патогенеза данных опухолей может способствовать также разработке методов их ранней диагностики и хирургической профилактики, которые в настоящее время не внедрены в клиническую практику.

Настоящая диссертационная работа будет направлена на решение некоторых из этих аспектов.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на материале 370 больных, из которых 100 – с карциномами яичника, среди которых 80 – HGSC и 20 с несерозными карциномами яичника, 83 – с серозными пограничными опухолями яичника, 85 – с доброкачественными серозными цистаденомами/цистаденофибромами яичника и 102 пациентки – с внеовариальными патологическими изменениями.

### 2.1. Клиническая характеристика пациенток, включенных в исследование

В связи с тем, что центральной проблемой исследования было изучение морфогенеза и диагностики серозных опухолей яичника различной степени злокачественности и в качестве группы сравнения выступали пациентки с внеовариальной патологией, подробная клиническая характеристика приведена именно для данных пациенток.

Средний возраст больных составил  $45,5 \pm 14,0$  лет (в группе серозных доброкачественных опухолей – составил  $49,6 \pm 5,9$ , серозных пограничных опухолей –  $35,7 \pm 13,3$ , в группе HGSC –  $48,1 \pm 18,8$ , в группе больных с внеовариальной патологией  $35,8 \pm 3,0$  лет). В табл. 1 приведены показатели роста и веса включенных в исследование пациенток.

**Таблица 1.** Особенности роста-весовых соотношений в четырех группах

Группа	Вес, кг	Рост, см	ИМТ
Серозные доброкачественные опухоли	$71,6 \pm 9,0$	$166,0 \pm 6,1$	$27,6 \pm 4,9$
Серозные пограничные опухоли	$62,5 \pm 13,3$	$163,7 \pm 4,5$	$26,9 \pm 8,9$
HGSC	$64,1 \pm 9,1$	$161,1 \pm 9,1$	$25,0 \pm 5,0$
Внеовариальная патология	$56,0 \pm 9,8$	$161,8 \pm 5,8$	$20,3 \pm 2,5$

При объективном исследовании опухоли в малом тазу были обнаружены у 80% больных с HGSC, у всех пациенток с пограничными опухолями и у 71,4% – с доброкачественными серозными опухолями (табл.2). При УЗИ органов малого таза опухоли были выявлены у 100% больных с пограничными и доброкачественными овариальными опухолями, но лишь у 80% – с HGSC.

**Таблица 2.** Средние размеры опухолей, при пальпаторной, ультразвуковой, интраоперационной оценке

	HGSC	Серозные доброкачественные опухоли	Серозные пограничные опухоли	Внеовариальная патология
Средние размеры опухоли*, при гинекологическом исследовании, см	8,8±5,2	8,8±6,3	6,7±2,9	-
Средние размеры опухоли* при УЗ-оценке, см	7,7±3,4	7,7±5,8	5,8±4,1	-
Средние размеры опухоли* при интраоперационной оценке, см	14,0±6,0	8,1±3,8	10,2±8,5	-

\*расчет производился по наибольшему размеру опухоли из трех

Средние размеры опухоли по данным УЗИ составили при HGSC 7,7±3,4 см, пограничных – 5,8±4,1 см, доброкачественных – 7,7±5,8 см. Интраоперационная оценка размера опухоли была следующей: при HGSC средний размер опухолевых масс составил 14,0±6,0 см, серозных пограничных – 10,2±8,5 см, доброкачественных опухолей яичников – 8,1±3,8 см.

Учитывая, что в РФ в настоящее время используется вариант классификации рака яичников, маточной трубы, брюшины от 2009 г., диагноз

выставлялся интраоперационно согласно принятой классификации. Однако, в 2014 г. FIGO перемотрели классификацию, после чего был принят следующий вариант. В данной работе мы приводим оба варианта стадирования.

Ниже приводится сравнительная характеристика двух классификаций для четкого понимания изменений, произошедших после анализа 2014 г. (табл. 3).

**Таблица 3. Сопоставление классификаций FIGO 2009 и 2014 гг.**

<b>I стадия: опухоль ограничена яичниками</b>			
<b>Старая</b>		<b>Новая</b>	
IA	Опухоль ограничена одним яичником, асцита нет. Нет опухолевых проявлений на внешней поверхности яичника, капсула интактна, нет опухолевых клеток в перитонеальном смыве	IA	Опухоль ограничена одним яичником. Нет опухолевых проявлений на внешней поверхности яичника, капсула интактна, нет опухолевых клеток в перитонеальном смыве
IB	Оба яичника вовлечены в опухолевый процесс, остальное соответствует стадии IA	IB	Оба яичника вовлечены в опухолевый процесс, остальное соответствует стадии IA
IC	В опухолевый процесс вовлечены один или оба	IC: опухоль ограничена одним или двумя яичниками	

	яичника, но с наличием опухоли на поверхности одного или обоих яичников, или нарушением капсулы, или имеется асцит, и/или обнаруживаются опухолевые клетки в перитонеальном смыве	IC1	Нарушение целостности капсулы опухоли интраоперационно
		IC2	Нарушение целостности капсулы опухоли до операции или наличие опухоли на поверхности яичника/яичников
		IC3	Асцит или опухолевые клетки в перитонеальном смыве
<b>II стадия:</b> Опухоль вовлекает один или оба яичника и распространяется в полость малого таза, или первичный перитонеальный рак			
<b>Старая</b>		<b>Новая</b>	
IIA	Опухоль характеризуется распространением и/или метастазами в матку и/или маточные трубы	IIA	Опухоль характеризуется распространением и/или метастазами в матку и/или маточные трубы
IIB	Распространение на другие ткани малого таза	IIB	Распространение на другие ткани малого таза

ПС	Опухоль такая же, как в стадиях ПА и ПВ, но имеется опухоль на поверхности одного или обоих яичников, или отмечается разрыв капсулы, или асцит, и/или обнаруживаются опухолевые клетки в перитонеальном смыве		ПС	Из классификации удалена	
<p><b>III стадия:</b> Опухоль вовлекает один или оба яичника с цитологически или гистологически подтвержденными перитонеальными имплантатами за пределами малого таза и/ или метастазами в забрюшинные лимфоузлы</p>					
<b>Старая</b>			<b>Новая</b>		
ША	Микроскопические метастазы за пределами малого таза.		ША	Позитивные ретроперитонеальные лимфоузлы и/или микроскопические метастазы по брюшине и брюшной полости	
ША1			Только позитивные ретроперитонеальные лимфоузлы		
ША1i			Mts ≤ 10мм		
ША1ii			Mts > 10мм		
ША2	Микроскопические метастазы по брюшине и брюшной полости; ±				

			позитивные ретроперитонеальные лимфоузлы.	
ШВ	Опухоль одного или обоих яичников с макроскопическими, гистологически доказанными метастазами по брюшине, не более 2 см в наибольшем размере; в лимфатических узлах метастазов нет	ШВ	Макроскопические метастазы по брюшине за пределами малого таза, $\leq 2$ см в наибольшем размере; $\pm$ метастазы в забрюшинные лимфоузлы. Включая распространение на капсулу печени/селезенки	
<b>Старая</b>		<b>Новая</b>		
ШС	Макроскопические, метастазы в брюшную полость более 2 см в наибольшем размере, и/или метастазы в забрюшинные либо паховые лимфатические узлы	ШС	Макроскопические метастазы по брюшине за пределами малого таза, $>2$ см в наибольшем размере; $\pm$ метастазы в забрюшинные лимфоузлы. Включая распространение на капсулу печени/селезенки	
<b>IV стадия:</b> отдаленные метастазы, исключая перитонеальные				

Старая		Новая	
IV	Отдаленные mts, исключая перитонеальные, включая паренхиматозные mts в печени.	IVA	Плевральный выпот с подтвержденными цитологически опухолевыми клетками
		IVB	Mts в паренхиму печени и/или селезенки, экстраабдоминальные органы, включая mts в паховые и экстраабдоминальные лимфоузлы

Также рекомендовано:

1. При стадировании должен быть указан гистологический тип опухоли и дифференцировка (степень злокачественности).
2. По возможности, указывается первичный очаг (яичник, маточная труба, брюшина).
3. Опухоли, которые в других случаях можно было бы отнести к I стадии, вовлеченные в рубцово-спаечный процесс (с плотными спайками), должны быть отнесены ко II стадии, при обнаружении опухолевых клеток в плотных спайках при их гистологическом исследовании.

Таким образом, согласно редакции FIGO 2009 г., после проведенного стадирования у 53,6% пациенток была выявлена IIIA стадия рака яичников, в 36,2% – IIIС, в 10,2% – IA. Согласно редакции 2014 г.: в 27,5% – IIIA1ii, в 29,0% IIIB, в 31,9% – IVB, в 11,6% одной IA стадии. Кроме того, стадирование пограничных опухолей яичников проводилось согласно классификации FIGO 2009 (в редакции 2014 г IA и B стадии не подвергались изменениям), принятой

для рака яичников, в 59,0% случаях у пациенток была определена IA, в 41% – IB стадии.

## **2.2. Характеристика маточных труб пациенток, включенных в исследование**

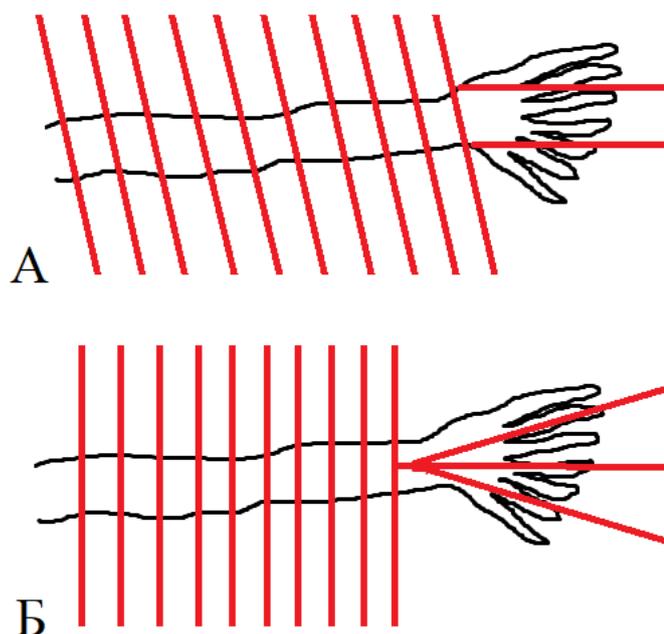
Все пациентки с сохраненным менструальным циклом были прооперированы в фазу пролиферации. Из удаленных маточных труб на исследования были взяты 3-15 фрагментов ткани, из которых получали 3-4 ступенчатых среза с интервалом 200 мкм. Изучено 618 маточных труб: 118 у больных с HGSC, 150 – с серозными пограничными опухолями, 153 маточных трубы – от пациенток с серозными цистаденомами, 34 маточные трубы – с несерозными карциномами яичника и 163 маточные трубы – у пациенток с внеовариальными патологическими изменениями. Для исследования были взяты также 80 образцов опухолевой ткани HGSC, 6 образцов ткани серозной пограничной опухоли и 5 образцов ткани серозной цистаденомы. Маточные трубы больных с карциномами яичника были исследованы в соответствии модифицированным с SEE-SIM протоколом, предполагающим отсечение фимбриального отдела на расстоянии 0,5-1 см от воронки маточной трубы для визуализации так называемой переходной области (**рис.10**).

Следует отметить, что оценка маточных труб, удаленных до и после 2012 г., проводилась нами отдельно, так как в 2012 г. в патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России начал использоваться протокол для тотального гистологического исследования маточных труб (SEE-FIM протокол), регламентированный для изучения маточных труб при серозных раках яичника/маточных труб/брюшины [286, 346].

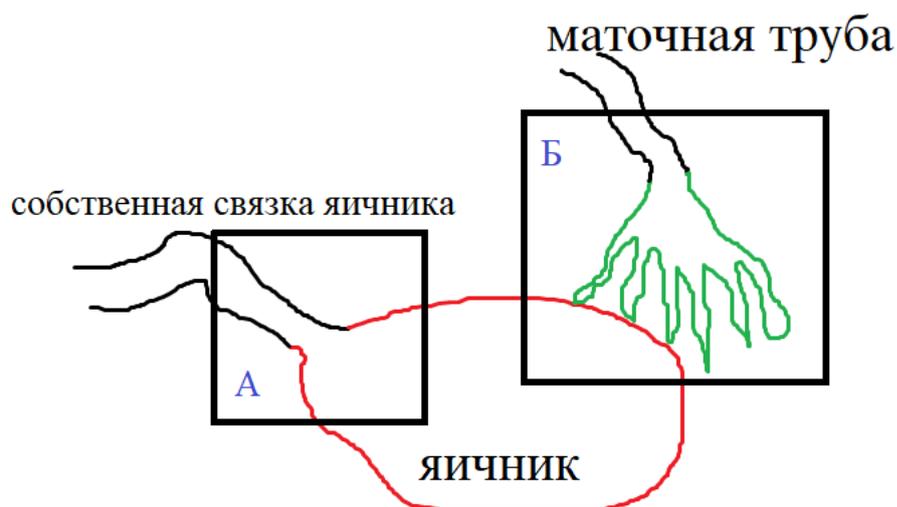
Обязательным стало взятие на исследование фимбриального отдела маточной трубы и при ряде других патологических процессов. Отдельно был взят материал между яичником и яичниковой связкой и яичником, и маточной

трубой (при наличии единого макропрепарата) для прицельного изучения данных участков.

Отдельно был взят материал между яичником и яичниковой связкой и яичником, и маточной трубой (при наличии единого макропрепарата) для прицельного изучения областей соприкосновения двух типов эпителия. Для исследования были взяты фрагменты ткани поверхностного эпителия яичника (ПЭЯ), его переход в слизистую оболочку маточной трубы, переход ПЭЯ в мезотелий брюшины (параовариальная, или яичниково-перитонеальная зона), фимбрии с мезотелием, покрывающим данный отдел маточной трубы (паратубарная или трубно-перитонеальная зона). Для этого использован модифицированный SEE-FIM алгоритм (тотальное исследование фимбрий с отступлением для отсечения от остальной части маточной трубы на 0,5-1 см) (**рис. 9**); области, из которых взяты фрагменты тканей для исследования, представлены на **рис.10**.



**Рисунок 9 А.** Протокол полного исследования маточной трубы (Protocol for Sectioning and Extensively Examining the FIMbriated End (SEE-FIM) of the Fallopian Tube). **Б.** Предложенная модификация SEE-FIM протокола для визуализации трубно-перитонеальной переходной области



**Рисунок 10.** Области взятия фрагментов ткани для исследования: **А** – параовариальная, или яичниково-перитонеальная зона, **Б** – паратубарная, или трубно-перитонеальная зона. Типы эпителия: *черным цветом* – мезотелий брюшины, *красным* – ПЭЯ, *зеленым* – слизистая оболочка фимбрий маточной трубы

### 2.3. Гистологический и иммуногистохимический методы

Для гистологического исследования материал фиксировали в 10% нейтральном формалине в течение 24 ч., заливали в парафин, готовили срезы толщиной 4-5 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологическим методом изучены 618 маточных труб и 91 образец опухолевой ткани (80 HGSC, 6 серозных пограничных опухолей и 5 серозных цистаденом яичника).

Для иммуногистохимического исследования были использованы 16 коммерческих антител: Ki67 (маркер пролиферативной активности), Bcl2 (маркер апоптоза), p53, p16 (маркеры супрессии опухолевого роста), онкопротеин stathmin 1, E-кадгерин и CD44 (молекула адгезии), ламинин-gamma1 (компонент внеклеточного матрикса), LHX9, ALDH1, Nanog, LGR5 (маркеры прогениторных клеток), антитела к стероидным рецепторам (прогестероновому рецептору A (PgR), фактору транскрипции PAX2, компоненту wnt-сигнального пути, регулирующему клеточную адгезию и транскрипцию генов,  $\beta$ -catenin. Всего было оценено 788 ИГХ-препарата. Характеристики антител и условий их применения представлены в табл. 4.

*Таблица 4. Иммуногистохимические маркеры и их характеристики, применявшиеся в исследовании*

№ п/п	Наименование	Клон	Разведение	Поликлон./Моноклон.	Фирма производитель	Положительный контроль
1	Ki-67	MIB-1	Ready to use	Моноклон.	Dako, Denmark	Препарат ткани миндалина
2	Bcl-2	124	1:100	Моноклон.	Cell Marque	Препарат ткани миндалина
3	p53	D0-7	Ready to use	Моноклон.	Dako, Denmark	Препарат рака молочной железы
4	Laminin-gamma1	2E6-B4	Ready to use	Моноклон.	Santa Cruz Biotechnology США	Препарат ткани миндалина
5	Stathmin1	EP247	Ready to use	Моноклон.	Epitomics, США	Препарат ткани миндалина
6	PAX2	ab79388	1:100	Поликлон.	Cell Marque	Препарат ткани почки
7	$\beta$ -catenin	14	Ready to use	Моноклон.	Cell Marque	Препарат ткани слюнной железы
8	PgR	636	Ready to use	Моноклон.	Dako, Denmark	Препарат эндометрия фазы пролиферации
9	p16	E6H4	Ready to use	Моноклон.	Roche, Швейцария	Препарат плоскоклеточного рака шейки матки
10	Calretinin	SP65	Ready to use	Поликлон.	Cell Marque, США	Препарат толстой кишки
11	NANOG	Ep225	1:50	Моноклон.	Cell Marque, США	Препарат ткани семиномы
12	LGR5	5C8	1:400	Поликлон.	Merck, США	Препарат ткани толстой кишки
13	CD44	MRQ-13	1:100	Моноклон.	Cell Marque, США	Препарат аденокарциномы эндометрия
14	LHX9	-	1:50	Поликлон.	Sigma, США	Препарат коры головного мозга
15	Oct4	MRQ-10	1:100	Моноклон.	Cell Marque, США	Препарат ткани семиномы
16	CD117	YR145	1:100	Моноклон.	Cell Marque, США	Препарат уротелиальной ткани

Показатель пролиферации определяли на основании процентного содержания позитивно окрашенных клеток в 300 клетках [417].

Пролиферативную активность по экспрессии Ki-67 оценивали следующим образом: 1) 0% - 20% – низкая пролиферативная активность, 2) 21% - 50% – умеренная пролиферативная активность, 51%-100% – высокая пролиферативная активность.

Экспрессию p16, stathmin1, laminin-gamma1, PAX2, calretinin, NANOG, CD 44, CD117, Oct4, LHX9, LGR5 – полуколичественным методом (в баллах) (0 – отсутствие экспрессии или единичные позитивные клетки, 1+ – <10% позитивно окрашенных клеток, 2+ – 10–25% позитивно окрашенных клеток, 3+ – 26–50% позитивно окрашенных клеток, 4+ – 51–75% позитивно окрашенных клеток и 5+ – 76–100% позитивно окрашенных клеток), положительной считали экспрессию маркера, соответствующую 4 и 5 баллам [298, 406].

Экспрессию p53 оценивали отдельно по интенсивности окрашивания (отсутствие экспрессии, слабая, умеренная, выраженная экспрессия) и в процентном соотношении позитивно окрашенных клеток. Экспрессия p53 считалась положительной, если визуализировалась умеренная и выраженная ядерная экспрессия маркера в >75% клеток [401]. Экспрессию p53 при слабопозитивной реакции рассматривали как соответствующую wild type гена *TP53* (слабоположительное окрашивание), при тотально негативном или выраженном окрашивании – mutant type гена *TP53* [228].

Оценка экспрессии calretinin проводилась по интенсивности ядерного окрашивания (отсутствие экспрессии, слабая, умеренная, выраженная экспрессия) и считалась положительной при умеренной и выраженной коричневой ядерной окраске. Calretinin-негативные участки диагностировались при отсутствии ядерной экспрессии маркера, при этом, экспрессия его в цитоплазме могла сохраняться [435].

Оценку экспрессии рецепторов к прогестерону проводили в баллах по шкале H-score (по формуле  $3a + 2b + 3c$ , где a – процент сильно окрашенных

клеток, *b* – процент умеренно окрашенных клеток, *c* – процент слабо окрашенных клеток). Экспрессия считалась отрицательной при H-score <10, слабой при H-score 10-99, умеренной при H-score 100-199, сильной при H-score 200-300 [433].

Оценку интраэпителиальных поражений маточной трубы проводили с помощью алгоритма, предложенного R. Vang (2012) [434]. В соответствии с этим алгоритмом при морфологической оценке срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, выделяют следующие изменения:

а) соответствующие STIC (имеющие большинство признаков STIC (увеличение ядра, гиперхромазия, неравномерно распределенный хроматин, выраженные ядрышки, митотическая активность, признаки апоптоза, потеря полярности и скученность эпителиальных клеток) в 12 и более подряд расположенных эпителиоцитах; б) подозрительные в отношении STIC (имеющие часть признаков STIC) и в) не подозрительные в отношении STIC (имеющие минимальные изменения эпителиоцитов, не позволяющие отнести их к предыдущим двум категориям).

После морфологической оценки по данному алгоритму проводится ИГХ оценка срезов: для верификации аномальной экспрессии p53 необходима умеренная или высокая экспрессия данного маркера более чем в 75% клеток пораженной области, высокая экспрессия Ki-67 диагностируется при выявлении положительного окрашивания ядер более, чем в 10% клеток в зоне поражения).

При морфологических изменениях, соответствующих STIC, после ИГХ оценки выделяли: STIC (при аномальной экспрессии p53 и высокой экспрессии Ki-67), STIL (при аномальной экспрессии p53 и низкой экспрессии Ki-67; нормальной экспрессии p53 (слабое окрашивание ядер клеток или цитоплазматическое окрашивание) и высокой экспрессии Ki-67; нормальной экспрессии p53 и низкой экспрессии Ki-67 (**рис.4**))

Следует отметить, что точные морфологические критерии, отличающие STIL от STIC в алгоритме R. Vang [434], а также в исследованиях других

ученых [151] не описаны, поэтому данный аспект требует дальнейшего изучения и доработки. В нашем исследовании к «подозрительным в отношении STIC» поражениям относились те, что имели 2 и более критерия STIC (как и в исследовании S. Munakata) [289].

#### 2.4. Цитологический и иммуноцитохимический методы

Материал для приготовления мазков был получен с помощью интраоперационного взятия ткани (эпителия) фимбриального отдела маточных труб с помощью урогенитального зонда. Для этого в стерильных условиях при лапароскопии или лапаротомии рабочая часть урогенитального зонда с напылением из сложных эфиров целлюлозы помещалась в контейнер, расположенный в полой ручке зонда, вводилась в брюшную полость, где конструкция разбиралась, производился забор материала, рабочая часть вновь помещалась в контейнер и извлекалась из брюшной полости (рис.11).



**Рисунок 11.** Методика интраоперационного забора эпителия фимбриального отдела маточной трубы с помощью урогенитального зонда

После взятия материал немедленно переносился в контейнер с запатентованным концентрирующим раствором (Бектон Дикинсон Б.В, Нидерланды), BD SurePath™). Мазки готовили на аппарате той же фирмы стандартной методике [131]. Метод приготовления включал в себя: 1) перемешивание с использованием шейкера для изоляции отдельных клеток, 2) помещение части пробы в центрифужную пробирку для центрифугирования в градиенте плотности (это приводило к разделению клеток на фракции в

зависимости от их веса и позволяло удалить из мазка гранулоциты, эритроциты и обломки клеток), 3) перенос осадка, содержащего популяцию клеточных элементов пригодных для диагностической оценки в камеру для осаждения, 4) осаждение клеток в тонких слоях на предметном стекле с последующим удалением остатка жидкости, 5) окрашивание клеточного материала по методу Папаниколау.

Всего получено и оценено 66 цитологических мазка. Все мазки имели достаточное количество клеток для оценки, среди них были выделены малоклеточные (<200 клеток), клеточные (>200-2000клеток) и гиперклеточные (>2000 клеток) [154]. Определяли следующие характеристики клеток: ядерный полиморфизм, неровность контуров ядра, количество ядрышек, состояние хроматина, внутриядерные включения. Использовали следующие критерии:

1) *Размеры ядер клеток.* При помощи окулярного микрометра проводились измерения наиболее крупных и мелких ядер. По размеру самых крупных размеров ядер выделяли: а) легкий ядерный полиомрфизм – с диаметром ядер, не превышающих более чем в два раза ядро нормальной клетки эпителия слизистой оболочки маточной трубы (эталон); б) умеренный – с диаметром ядер, превышающим эталон в два - три раза; в) выраженный – с диаметром ядер, превышающим эталон более чем в три раза.

2) *Вариабельность формы контура ядра.* По форме контура ядра выделяли: а) легкую неровность контуров ядра – клетки с округлыми или овальными ядрами правильной формы; б) умеренную неровность контуров ядра – ядра с неровным контуром, проявляющимся плавными изгибами, волнистостью относились ко второй группе; в) выраженную неровность контуров ядра – ядра имели выраженную деформацию в виде отчетливых вырезков; глубоких борозд, проникающих вглубь ядра; выпячиваний различной формы (лопастевидной, угловатой, в виде «песочных часов», дочерних или почкующихся ядер и т.п.); разрывов, резких утолщений.

3) *Ядрышки*. В качестве ядрышек рассматривались округлые структуры с четкими границами, диаметром около 1 мкм и крупнее. По изменению ядрышек были выделены: а) клетки, в которых ядрышки не определялись при увеличении микроскопа х400 или обнаруживались редко, правильной формы, размером не более 5 мкм; б) клетки, в которых ядрышки были аналогичных параметров, определялись при увеличении микроскопа х200; в) клетки, в которых ядрышки выявлялись при увеличении микроскопа х630, независимо от размера и количества, а также ядрышки более 5 мкм цитологически (макронуклеолы) при увеличении микроскопа х400 или атипические ядрышки (одновременно множественные и вариабельные по размеру, и беспорядочно разбросанные по ядру).

4) *Хроматин*. При оценке характера распределения хроматина в ядрах опухолевых клеток выделены: а) клетки с тонкодисперсным, однородным хроматином, б) клетки с неравномерным хроматином с участками просветления; в) клетки с грубодисперсным, крупноглыбчатым хроматином [86].

Иммуноцитохимическое исследование проводили с помощью антител к Ki-67 и p16 в виде набора CINtec PLUS (Roche): выраженное ядерное красное окрашивание соответствовало позитивной экспрессии Ki-67, коричневое – позитивной экспрессии p16 [368]; в отношении экспрессии p53 и bcl-2 антитела и способы оценки реакций были аналогичными с таковыми при иммуногистохимическом исследовании. Всего оценивалось 20 иммуноцитохимических препаратов.

## **2.5. Молекулярно-генетический метод**

### **2.5.1. Оценка мутаций в генах BRCA1/2**

80 образцов опухолевой ткани серозных карцином яичника высокой степени злокачественности были проанализированы в отношении наличия мутаций в генах BRCA 1/2: оценка мутаций в генах BRCA1/2 осуществлялась с помощью наборов реагентов для определения мутаций, ассоциированных с раком молочной железы и яичников методом полимеразной цепной реакцией

в режиме реального времени с детекцией кривых плавления РеалБест-Генетика BRCA (BRCA1 185delAG/ 3875del4, BRCA1 3819del5/T300G, BRCA1 2080delA/BRCA2 6174delT, BRCA1 4153delA/ 5382insC) на амплификаторе ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Принцип метода основан на амплификации выбранного участка ДНК человека с последующей дедукцией кривых плавления гибридных комплексов продуктов ПЦР и специфичных зондов. Процесс амплификации заключается в повторяющихся циклах: температурная денатурация ДНК матрицы, отжиг праймеров комплементарными последовательностями ДНК-матрицы, синтез комплементарной цепи с этих праймеров Taq ДНК-полимеразой.

После реакции амплификации понижение температуры приводит к гибридизации специфичного ДНК-зонда с продуктом амплификации и к снижению уровня флуоресцентного сигнала в пробирке. В процессе температурного плавления образовавшихся дуплексов происходит высвобождение ДНК-зонда, несущего флуоресцентный краситель. В случае неполной комплементарности ДНК-зонда и выбранного участка ДНК, температура плавления будет ниже, чем в случае полной комплементарности. Таким образом, для двух аллельных вариантов температуры плавления дуплексов зонда и продуктов амплификации отличаются, благодаря этому идентифицируется генотип (нормальная гомозигота, гетерозигота, мутантная гетерозигота).

### **2.5.2. Определение экспрессии мкРНК**

Отобранные после морфологической и ИГХ-диагностики образцы неизменных яичников (от пациенток с доброкачественной внеовариальной патологией), опухолевой ткани (серозной цистаденомы, серозной пограничной опухоли и HGSC), ткань фимбриального отдела маточной трубы, а также образцы периферической крови в дальнейшем использовались для выделения РНК (с помощью набора для выделения Qiagen), оценка качества РНК производилась с помощью Nano6000, Agilent [188].

Далее проводилось создание кДНК-библиотек мкРНК с последующим глубоким секвенированием на платформе NextSeq, Illumina. Аннотирование мкРНК (miRBase) [223]. Сопоставление профилей экспрессии мкРНК в опухолях яичников и фимбриальном отделе маточных труб проводилась с использованием программы Encode. В завершении проводился поиск генов-мишеней мкРНК для понимания морфогенеза заболевания и последующей разработки таргетной терапии (база данных Cytoscape) [448]. Для подтверждения полученных данных использовалась методика, согласно которой методом количественной ПЦР в реальном времени возможно определить содержание РНК в ткани или биологической жидкости организма посредством циклической реакции амплификации кДНК, являющейся копией РНК и синтезируемой в ходе реакции обратной транскрипции. На основании данных секвенирования были выделены наиболее перспективные мкРНК (hsa-miR-16-5p, hsa-miR-4255p, hsa-miR-17-5p, hsa-miR-20a-5p, hsa-miR-101-3p, hsa-miR-30d-5p, hsa-miR-93-5p), которые и были отобраны для тестирования методом количественной ПЦР. В качестве биологического материала для определения концентрации вышеперечисленных мкРНК выбрана плазма крови, данный способ предполагает: 1) выделение РНК из образцов плазмы периферической крови колоночным способом (набор Serum Plasma kit (Qiagen, Germany), в течение 1 часа; 2) синтез кДНК в ходе реакции обратной транскрипции мкРНК (набор miScript® II RT Kit protocol (Qiagen, Germany) в течение 1 часа 30 минут; 3) амплификацию кДНК с помощью ПЦР в реальном времени (набор miScript SYBR Green PCR Kit (Qiagen, Germany) и специфичных для мкРНК смысловых праймеров (на приборе StepOnePlus™ thermocycler (Applied Biosystems, USA) в течение 5 часов, которая включает детекцию флуоресцентного сигнала синтеркалирующего в двухцепочечный продукт реакции красителя SYBRGreen в режиме реального времени, построение кривых плавления продуктов реакции, обработку данных и их представление в графическом виде с помощью специального программного обеспечения.

## 2.6. Статистическая обработка данных

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Statsoft Statistica 8.0.725 (IBM SPSS Statistics 19.0 for Windows). После проведения теста на нормальность распределения данных, для сравнения показателей использовали критерии Краскела-Уоллиса (при множественных сравнениях) и Манна-Уитни (при парных сравнениях), для определения статистической значимости различий средних также применяли критерий  $\chi^2$  для произвольных таблиц.

Зависимость показателей экспансии секреторных клеток от возраста пациенток изучали с помощью методом парной линейной регрессии с оценкой тесноты корреляционной связи по коэффициенту Пирсона.

Для разработки прогностической модели, позволяющей определить риск серьезных карцином в зависимости от различных факторов, использовался метод дискриминантного анализа.

В качестве основных характеристик полученной модели рассчитывали показатели диагностической эффективности, чувствительности и специфичности. Для оценки воспроизводимости диагнозов рассчитывали коэффициент воспроизводимости (Cohen's kappa) по формуле:

$$k = (D - P) / (1 - P), \text{ в которой}$$

$D = (1/N) \sum_{i=1} X_{ii}$ , то есть сумма частот по диагонали, деленная на общее количество наблюдений (чистая согласованность), а  $P = (1/N^2) \cdot \sum_{i=1} X_i \cdot X_{\cdot i}$ , то есть сумма попарных произведений сумм по столбцу и по строке с одним и тем же номером, поделенная на квадрат общего количества наблюдений (случайная согласованность).

Воспроизводимость считается низкой при значении  $k < 0,20$ , удовлетворительной – при  $k = 0,21-0,40$ ; умеренной – при  $k = 0,41-0,60$ , хорошей – при  $k = 0,61-0,80$  и высокой – при  $k > 0,81$  [259].

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

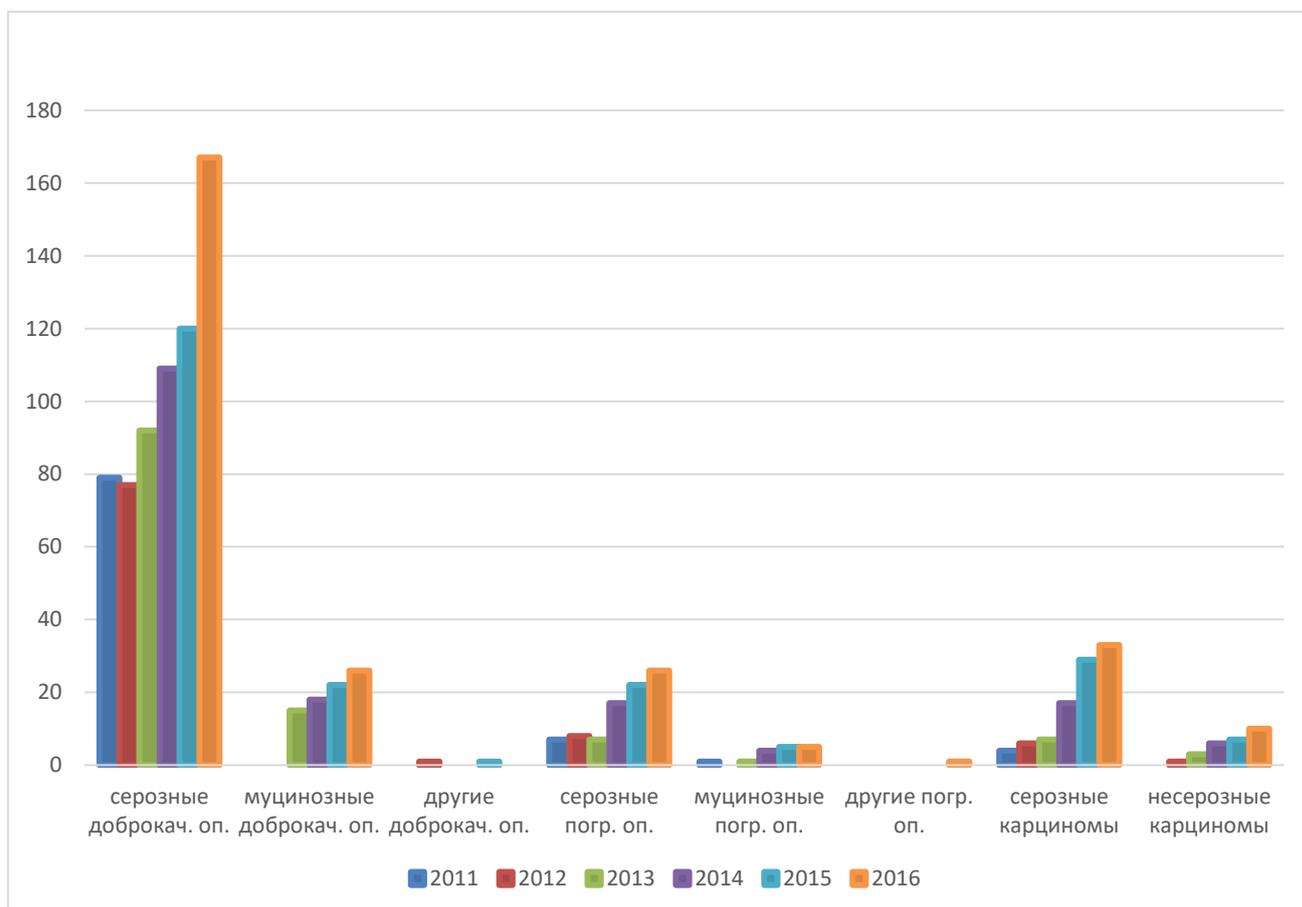
### 3.1. Структура опухолей яичников у пациенток, проходивших лечение в «ФГБУ НМИЦ АГиП им.В.И. Кулакова» Минздрава России в 2011-2016 гг.

Структура пациенток, проходивших лечение в ФГБУ «НМИЦ АГиП им.В.И. Кулакова» Минздрава России по поводу опухолей яичников, значительно изменилась с 2011 по 2016 гг. преимущественно за счет наращивания онкологических мощностей, привлечения дополнительных специалистов в области гинекологической патологии и рекрутирования соответствующих пациенток. Поэтому, если в 2011 г. были прооперированы единичные пациентки со злокачественными опухолями яичников, большинству из которых соответствующий диагноз был поставлен только после оперативного вмешательства, то в 2016 г. в ФГБУ «НМИЦ АГиП им.В.И. Кулакова» Минздрава России уже оперированы больные с предоперационным диагнозом «рак яичников», обследование и подготовка которых проводилась в соответствии со стандартами, принятыми для данной патологии.

Увеличилась также и доля пациенток с пограничными опухолями, как серозными, так и муцинозными. В связи с увеличением количества пациенток с пограничными и злокачественными опухолями яичника, изменилась и доля доброкачественных опухолей яичника, прежде всего, серозных и муцинозных цистаденом. Кроме того, существенно увеличилось и общее количество больных с опухолями яичника: если в 2011 г. было прооперировано 107 пациенток, то в 2016 г. – уже 268. Структура гистологических вариантов эпителиальных опухолей яичников представлена на **рис.13**.

Полученные данные коррелируют с общемировой и Российской тенденцией и отражают рост заболеваемости эпителиальными опухолями яичников в последние годы [21, 265, 304, 307, 336].

Кроме того, полученные данные согласуются и со структурой эпителиальных опухолей яичников, в которой лидирующую позицию занимают серозные опухоли вне зависимости от их степени злокачественности [87, 254, 272].



**Рисунок 12.** Структура эпителиальных опухолей яичников пациенток, прооперированных в Центре в 2011-2016 гг.

Что касается структуры злокачественных опухолей, то в нашем исследовании, так же, как и в большинстве публикаций мировой литературы [335], подавляющее большинство опухолей относилось к типу серозных карцином высокой степени злокачественности, в то время как серозные карциномы низкой степени злокачественности, а также муцинозные, светлоклеточные, эндометриоидные карциномы и злокачественные опухоли Бреннера встречались редко.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что серозные опухоли яичников являются наиболее распространенными опухолями среди

доброкачественных, пограничных и злокачественных эпителиальных опухолей яичников и, следовательно, изучение их морфогенеза и улучшение диагностики предопухолевых процессов является наиболее актуальной задачей в данной области.

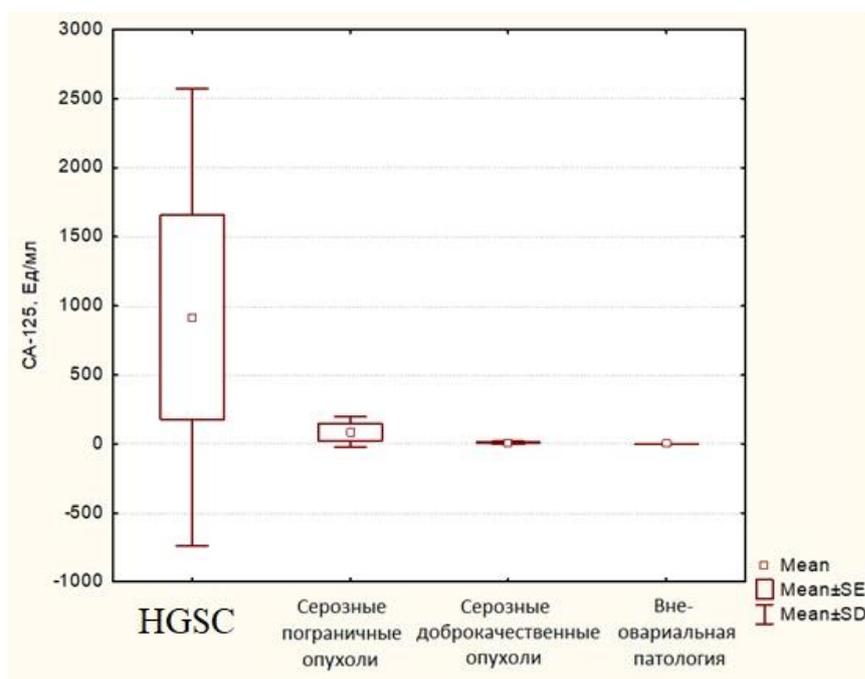
### **3.2. Результаты предоперационного обследования с формированием диагноза**

При объективном исследовании опухоли в малом тазу были обнаружены у 80% пациенток с HGSC, у всех больных с серозными пограничными опухолями и 71,4% пациенток с серозными доброкачественными опухолями яичников. Средние размеры опухоли, определяемой пальпаторно, составили у пациенток с HGSC  $8,8 \pm 5,2$  см, у больных с серозными пограничными опухолями –  $6,7 \pm 2,9$  см, у пациенток с серозными доброкачественными опухолями яичников –  $8,8 \pm 6,3$  см, статистически значимых различий при сравнении между группами выявлено не было ( $0,05 \leq p \leq 0,7$ ). У пациенток с HGSC опухоли были подвижны и болезненные при пальпации в 40% соответственно, у больных с серозными пограничными опухолями – в 100% подвижные и болезненные при пальпации, у пациенток с серозными доброкачественными опухолями яичников в 28,6% была отмечена подвижность опухоли, в 57,1% пальпация была болезненной. На первый взгляд эти результаты кажутся противоречивыми, но следует учитывать, что в ряде случаев пальпаторно опухоль не была обнаружена, что их объясняет.

По результатам УЗИ органов малого таза опухоли были выявлены у всех больных с серозными пограничными и серозными доброкачественными опухолями, но лишь в 80% у больных с HGSC. Средние размеры опухоли по результатам УЗИ составили у пациенток с HGSC  $7,7 \pm 3,4$  см, у больных с серозными пограничными опухолями  $5,8 \pm 4,1$  см, у пациенток с серозными доброкачественными опухолями –  $7,7 \pm 5,8$  см, также без статистически

значимых различий ( $0,5 \leq p \leq 0,9$ ). Похожие результаты были получены и в некоторых зарубежных исследованиях [160, 340, 402].

Исследование онкомаркеров проводилось 57,9% пациенткам, исключая пациенток с внеовариальной патологией. Поскольку в ряде случаев данные об уровне онкомаркеров (СА 125, НЕ 4, ROMA, СА19-9, ингибин, АФП) оказались недоступны, мы приводим средние значения и межгрупповое сравнение лишь СА125. Результаты представлены на **рис.13**.



**Рисунок 13.** Сравнение средних уровней СА-125 в группах (**Mean** – средняя, **SE** – стандартное отклонение, **SD** – среднее квадратическое отклонение)

Таким образом, при средних значениях СА-125 у больных с HGSC  $917,1 \pm 1653,7$  Ед/мл, при серозных пограничных опухолях  $86,3 \pm 109,9$  Ед/мл, при серозных доброкачественных опухолях  $8,5 \pm 8,7$  Ед/мл, статистически значимая разница была отмечена лишь при сравнении показателей при HGSC с таковыми у пациенток с доброкачественными опухолями ( $p=0,004$ ), что подтверждает слабое клиническое значение данного маркера в качестве диагностического, поскольку в группу больных HGSC были включены больные запущенными стадиями рака яичников. Также не было выявлено

достоверной разницы при сравнении уровней этого маркера между больными пограничными и доброкачественными опухолями ( $p=0,26$ ).

Таким образом, нами было подтверждено предположение о том, что применение этого онкомаркера для ранней, дифференциальной диагностики рака яичников невозможно и предпочтительное использование его при мониторинге химиотерапии.

В нескольких крупных популяционных исследованиях, посвященных различным алгоритмам скрининга рака яичников, было показано, что определение уровня СА 125, как в монорежиме, так и в комбинации с другими маркерами, не снижает смертности от рака яичников [175, 216, 309].

Следовательно, лишь в 60% случаев предположение о злокачественной природе опухоли было высказано на предоперационном этапе, превратившись интраоперационно в уверенность, благодаря срочному гистологическому заключению. Пограничные опухоли яичников в 66,7% случаях воспринимались при клинической интерпретации как доброкачественные, в остальных – как злокачественное новообразование. У 28,6% пациенток с доброкачественными опухолями яичников на предоперационном этапе предполагалось наличие злокачественных новообразований. Таким образом, в 36,8% случаях на предоперационном этапе было полное расхождение в диагнозах.

Интерес представляла интраоперационная оценка размера опухоли. Так, у больных с HGSC средний размер опухолевых масс составил  $14,0 \pm 6,0$  см, при пограничных опухолях –  $10,2 \pm 8,5$  см, при доброкачественных –  $8,1 \pm 3,8$  см. При сравнении размеров опухоли между больными с HGSC и пограничными опухолями ( $p=0,4$ ), а также между HGSC и доброкачественными опухолями ( $p=0,08$ ), статистической разницы выявлено не было.

В то же время, учитывая особенности опухолевого развития и метастазирования рака яичников, скорее всего, интерпретация полученных данных, как «меньший размер опухоли при доброкачественной патологии», является ошибочной.

Противоречивые данные о корреляции размеров опухоли и потенциалом ее злокачественности демонстрируют также работы, основанные на предоперационной (с помощью различных методов визуализации) и интраоперационной оценке размеров опухоли [299, 347, 383].

Для выяснения диагностической ценности УЗИ нами было проведено сравнение размеров опухолей выборки, полученных при проведении УЗИ малого таза, гинекологического исследования, при интраоперационной оценке. Статистически значимых различий получено не было. Результаты представлены в табл. 5 и 6.

**Таблица 5.** Средние размеры опухолей, при пальпаторной, ультразвуковой, интраоперационной оценке

	HGSC	Серозные пограничные опухоли яичников	Серозные доброкачественные опухоли яичников
Средние размеры опухоли*, при гинекологическом исследовании, см	8,8±5,2	6,7±2,9	8,8±6,3
Средние размеры опухоли* при УЗ-оценке, см	7,7±3,4	5,8±4,1	7,7±5,8
Средние размеры опухоли* при интраоперационной оценке, см	14,0±6,0	10,2±8,5	8,1±3,8

\*расчет производился по наибольшему размеру опухоли из трех

**Таблица 6.** Сравнение средних размеров опухолей выборки, полученных при гинекологическом, УЗИ, интраоперационном исследованиях

Сравниваемые показатели	P
Пальпаторно и УЗИ	0,7
Интраоперационно и УЗИ	0,3
Пальпаторно и интраоперационно	0,2

Из анализа клинических данных, доступных для изучения, можно заключить, что специфических жалоб, а также клинических симптомов для злокачественных новообразований яичников выявлено не было. Не всем больным был выполнен анализ крови на онкомаркеры, однако их диагностическая значимость также оказалась не велика.

Оценка размеров опухоли, определяемых с помощью УЗИ, а также интраоперационно, не показала достоверно значимой разницы для злокачественных опухолей, а также для пограничной, нивелируя диагностическую ценность и этих показателей. Эти данные позволяют заключить, что применяемые в настоящее время диагностические тесты не позволяют с уверенностью поставить диагноз злокачественной опухоли яичника даже на запущенных стадиях (большинство включенных в исследование пациенток). Следовательно, разработка диагностических подходов и тестов для ранней верификации карцином яичника, а также их непосредственных предшественников, должна проводиться с совершенно иным подходом, прежде всего опирающемся на новое представление о морфогенезе данных опухолей. Следовательно, основное внимание в разработке таких подходов должно быть уделено тому, какие именно патологические изменения и предраковые поражения имеют место в слизистой оболочке маточной трубы при серозных пограничных опухолях яичника и HGSC, а также их взаимосвязи с морфогенезом опухолей яичника. Для этого необходимо детальное исследование слизистой оболочки маточной трубы всеми доступными методами – прежде всего гистологическим и иммуногистохимическим, а также цитологическим и иммуноцитохимическим, генетическим и молекулярно-биологическим, что и было выполнено в ходе проведения данного исследования и полученным результатам посвящены следующие разделы диссертации.

### **3.3. Морфологическая, цитологическая, иммуногисто – и цитохимическая характеристика гиперпластических и интраэпителиальных изменений эндосальпинкса маточной трубы у больных с серозными опухолями яичников**

#### **3.3.1. Гиперпластические изменения эндосальпинкса**

Были изучены маточные трубы пациенток с гистологически верифицированными серозными пограничными опухолями (n=83), в группу сравнения включены пациентки с гистологически неизменным эндосальпинксом (n=25), которым была проведена экстирпация матки с придатками по поводу лейомиомы тела матки или аденомиоза. Исследование проводилось в два этапа: ретроспективный анализ включал материал, полученный в 1997–2011 гг., а проспективный – в 2012–2015 гг.

Деление на временные периоды обусловлено началом обязательного взятия на исследование фимбриального отдела маточной трубы в патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им.В.И. Кулакова» Минздрава России в 2012 году. Всего в исследование включены гистологические препараты 180 маточных труб, окрашенных гематоксилином и эозином, которые были разделены на пять групп: препараты маточных труб на стороне опухоли в проспективном периоде (n=48); препараты маточных труб со стороны опухоли в ретроспективном периоде; препараты маточных труб со стороны опухоли в ретроспективном периоде (n=50); препараты маточных труб с контрлатеральной стороны в проспективном периоде (n=17); препараты маточных труб с контрлатеральной стороны в ретроспективном периоде (n=15); группа сравнения (n=50).

Статистический анализ проводился с использованием критерия Манна–Уитни.

При микроскопии гистологических препаратов маточных труб проводилось сравнение морфологии слизистой оболочки неизменной маточной трубы пациенток с внеовариальной патологией с особенностями, выявляющимися в маточных трубах пациенток с серозными пограничными

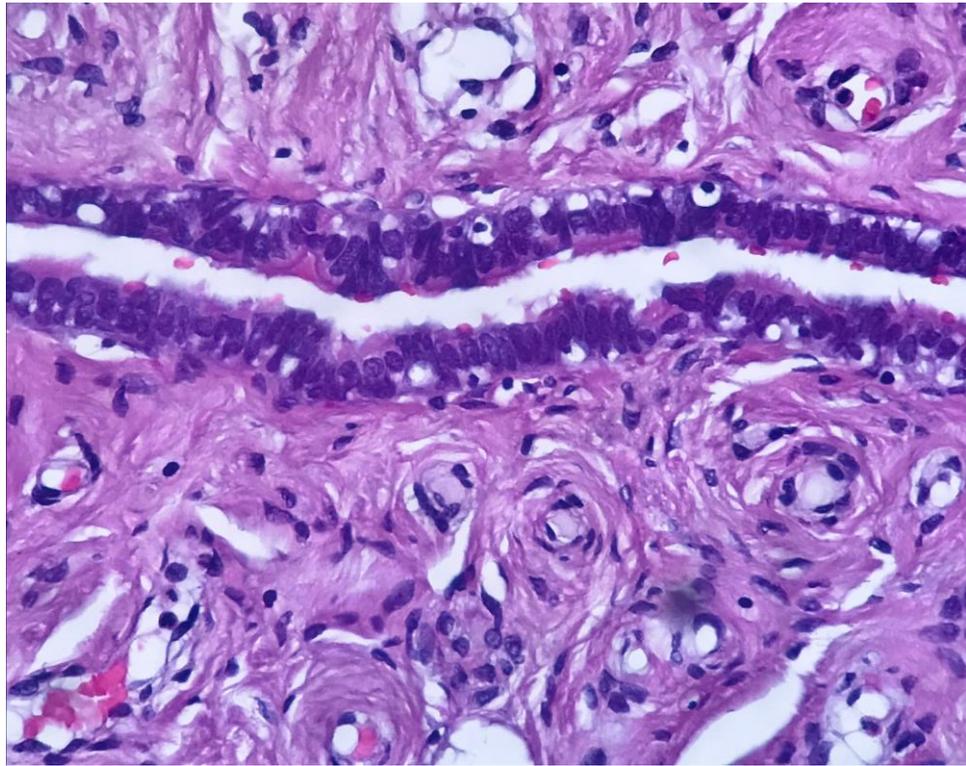
опухолями: формирование папиллярных выростов в просвет, наличие крупных папиллярных структур (с обильной стромой), мелких папиллярных структур (со скудной стромой), псаммомных телец, плотное расположение складок эндосальпинкса, признаки воспалительного процесса (рис. 14-19).

Для того чтобы избежать ошибочной верификации папиллярных структур в просвете маточной трубы (при тангенциальных срезах), учитывались только те срезы, в которых верифицировались 3 папиллярные структуры и более (в соответствии с рекомендациями R. Kurman [320]). Отдельно оценивали количество папиллярных структур, процент срезов, в которых они были выявлены. Полученные результаты отражены в табл. 7.

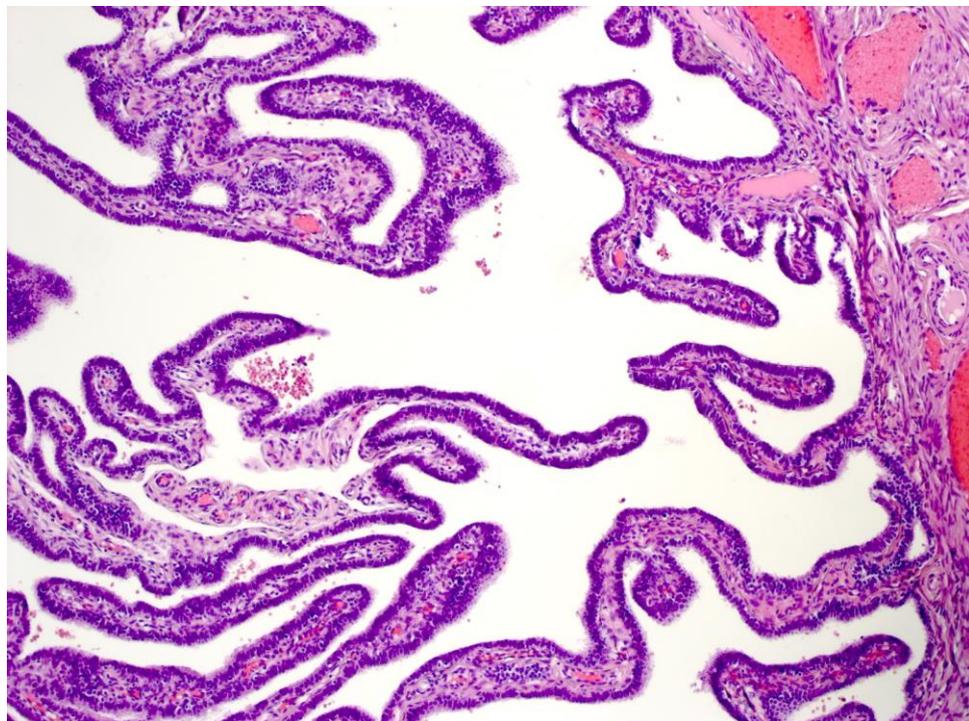
Кроме того, было выявлено, что плотное расположение складок эндосальпинкса встречалось значительно чаще в маточных трубах со стороны опухоли в период 2011-2015 гг., чем в 1997-2011 гг. (42% и 4% в среднем соответственно) и не встречалось в маточных трубах с контрлатеральной стороны и маточных трубах больных с внеовариальной патологией.

Пролиферация клеток эндосальпинкса без фенотипических изменений клеток и нарушения соотношения клеточного состава эпителия наблюдалась во всех исследуемых группах (от 47 до 83%).

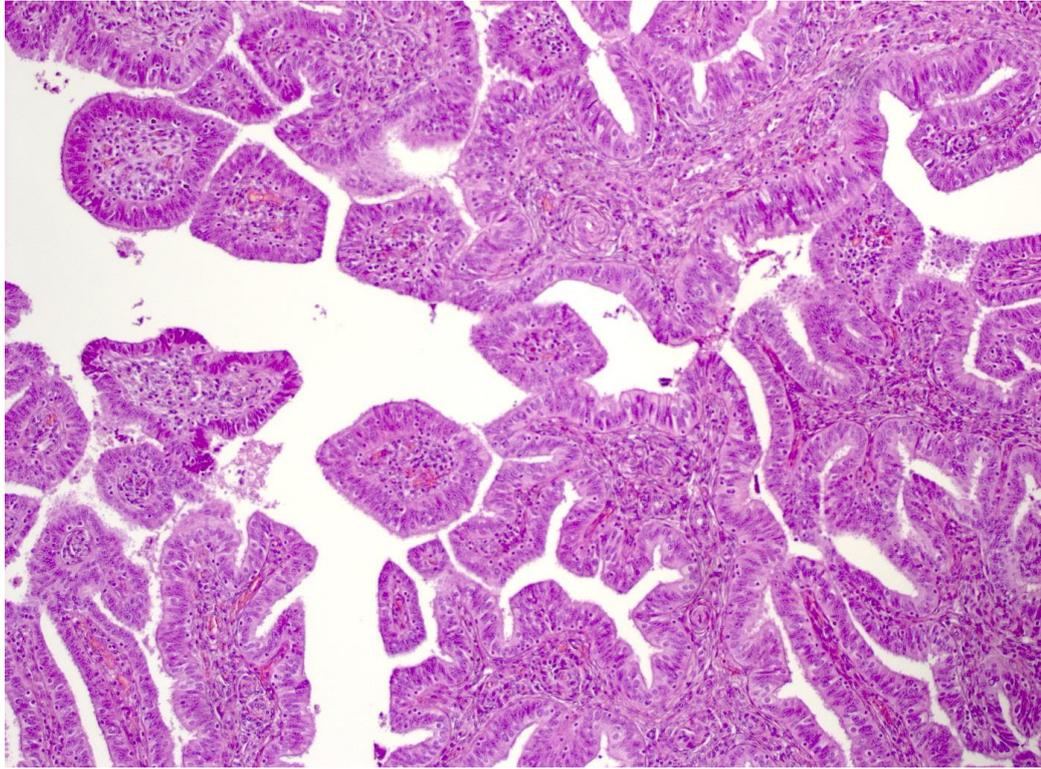
Сравнительные результаты по верификации данных морфологических образований показали, что средний процент срезов и среднее число срезов, в которых имелись папиллярные структуры, а также среднее число папиллярных структур в срезах статистически значимо отличались в маточных трубах со стороны опухоли у пациенток с серозными пограничными опухолями яичника по сравнению с таковыми при внеовариальной патологии ( $p < 0,05$ ).



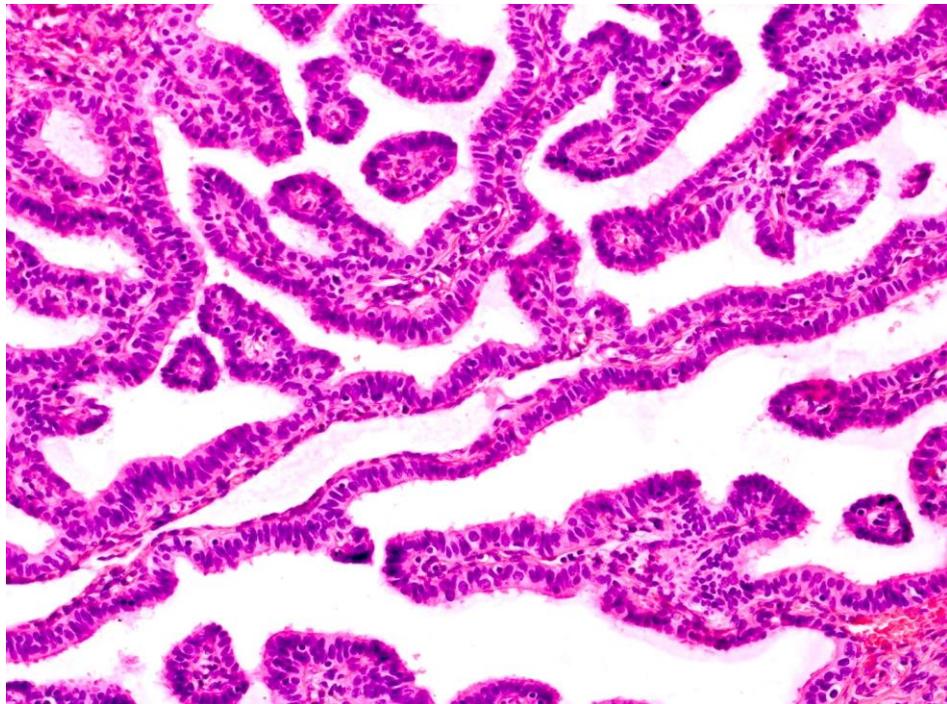
**Рисунок 14.** Неизмененный эпителий слизистой оболочки маточной трубы пациентки с внеовариальной патологией (лейомиома тела матки)  $\times 400$ . Окраска гематоксилином и эозином



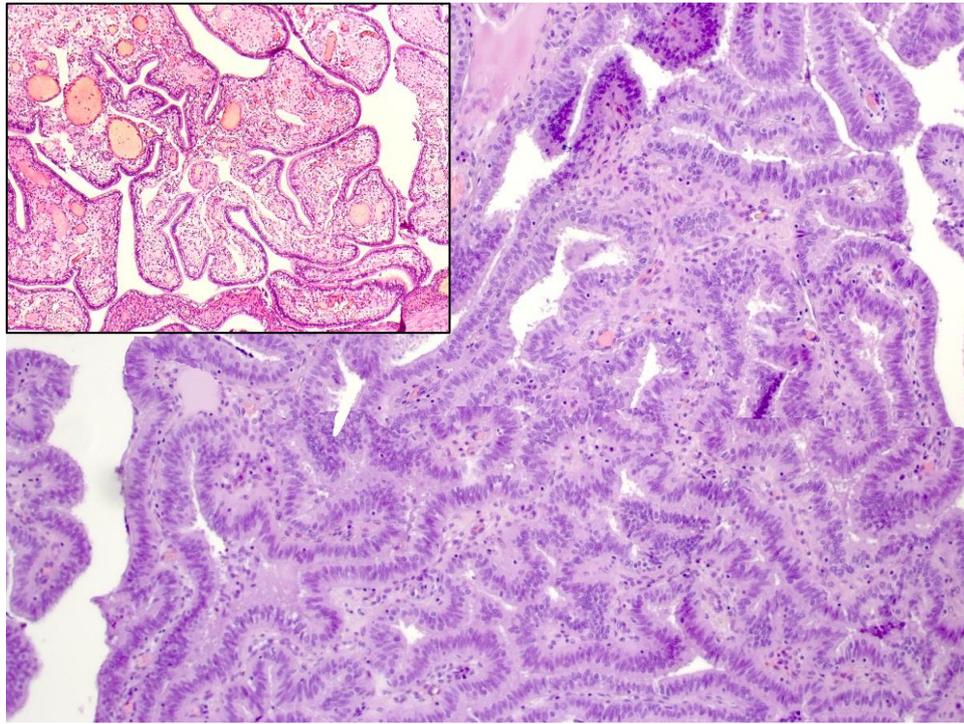
**Рисунок 15.** Формирование папиллярных выростов в просвет маточной трубы пациентки с серозной пограничной опухолью яичника,  $\times 100$ . Окраска гематоксилином и эозином



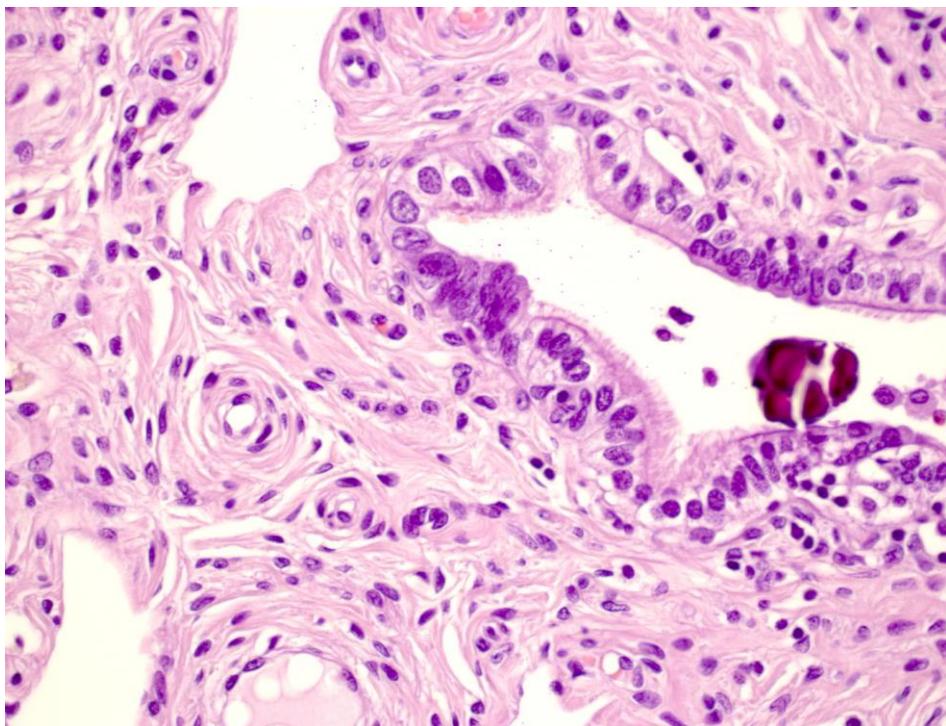
**Рисунок 16.** Крупные папиллярные структуры в маточной трубе пациентки с серозной пограничной опухолью яичника,  $\times 200$ . Окраска гематоксилином и эозином



**Рисунок 17.** Мелкие папиллярные структуры в маточной трубе пациентки с серозной пограничной опухолью яичника,  $\times 200$ . Окраска гематоксилином и эозином



**Рисунок 18.** Плотное расположение складок эндосальпинкса в маточной трубе пациентки с серозной пограничной опухолью яичника. На врезке – неизменная плотность складок эндосальпинкса у пациентки с внеовариальной патологией,  $\times 100$ . Окраска гематоксилином и эозином



**Рисунок 19.** Псаммомное тельце в просвете маточной трубы пациентки с серозной пограничной опухолью яичника,  $\times 400$ . Окраска гематоксилином и эозином

**Таблица 7.** Медианы и средние значения характеристик эндосальпинкса маточных труб при пограничных опухолях яичника и внеовариальной патологии (Me – медиана, Q<sub>1</sub>- 1-й квартиль, Q<sub>3</sub>- 3-й квартиль)

	<b>Срезы, в которых есть папиллярные структуры, %</b>				
	Со стороны опухоли		С контрлатеральной стороны		Внеовариальная патология
Возраст пациенток	35,7±13,3 лет				35,8±3,0 лет
	1997-2011	2011-2015	1997-2011	2011-2015	1997-2015
Me (Q1-Q3)	92,0 (87,0-95,0)	96,5 (95,0-99,2)	98 (97,3-99,2)	91 (84,2-97,0)	45 (33,7-52,5)
Среднее значение	90,3	97,3	97,3	90,9	44,3
	<b>Число папиллярных структур в трубе, шт</b>				
Me (Q1-Q3)	21,0 (15,0-26,2)	19,0 (12,0-22,0)	17,0 (12,2-20,7)	8,5 (5,0-22,0)	4,5 (1,5-5,50)
Среднее значение	20,9	17,9	16,0	11,9	3,6
	<b>Формирование папиллярных выростов в просвет трубы, %</b>				
Me (Q1-Q3)	100 (100,0-100,0)	100 (100,0-100,0)	90 (73,7-100,0)	87,5 (74,2-91,2)	29 (20,0-35,0)
Среднее значение	100	100	85	83	28,8
	<b>Маточные трубы с мелкими папиллярными структурами, шт</b>				
Me (Q1-Q3)	75,0 (53,7-90,0)	58,0 (43,7-70,5)	32,5 (27,2-36,7)	66,0 (48,7-80,0)	17,0 (13,0-20,0)
Среднее значение	73,0	56,0	33,0	66,0	16,0

Достоверные различия были выявлены и в отношении идентификации компактного расположения складок эндосальпинкса и папиллярных выростов в маточных трубах на стороне опухоли по сравнению с контрлатеральными маточными трубами пациенток с внеовариальной патологией ( $p < 0,05$ )

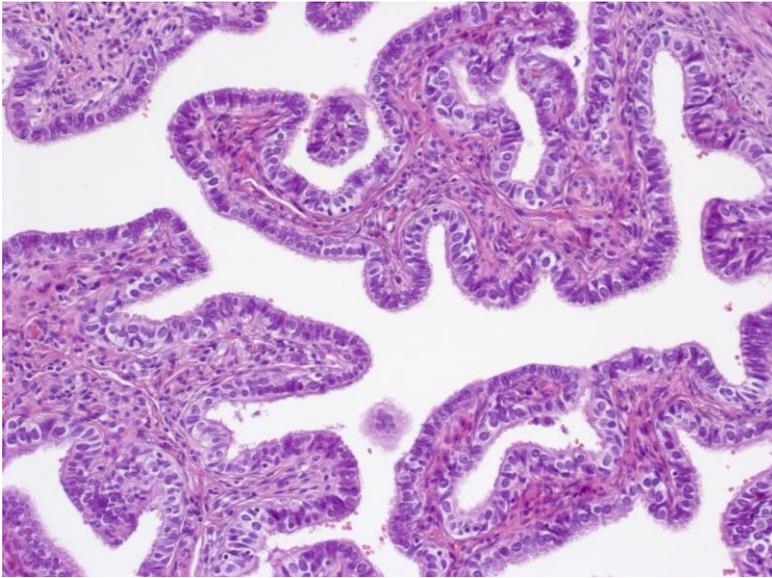
Следует отметить, что наличие псаммомных телец отмечалось только в маточных трубах на стороне опухоли, что подтвердили статистически значимые различия как по отношению к маточным трубам больных с внеовариальной патологией, так и маточным трубам с контрлатеральной стороны ( $p < 0,01$ ).

### **Иммуногистохимическое исследование**

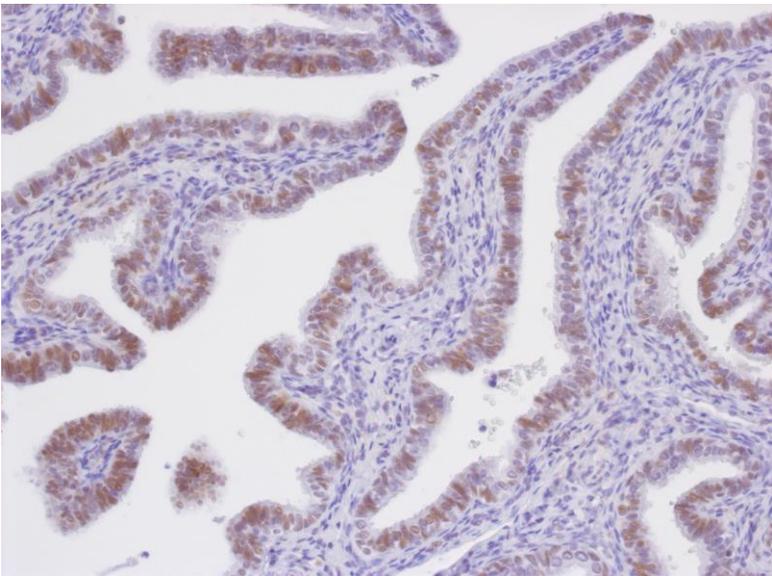
В эпителиальных клетках слизистой оболочки маточной трубы при ГИЭ экспрессия Ki-67 составила  $3\% \pm 1,9\%$ , экспрессия p53 в эпителиальных клетках была преимущественно слабopоложительной, а выраженная отмечалась лишь в  $4\% \pm 2,0\%$ .

В эпителиальных клетках неизмененного эндосальпинкса экспрессия Ki-67 составила  $2,7\% \pm 1,3\%$ , экспрессия p53 преимущественно была слабopоложительной, выраженная – в  $3,3\% \pm 1,7\%$  (**рис. 21-23**).

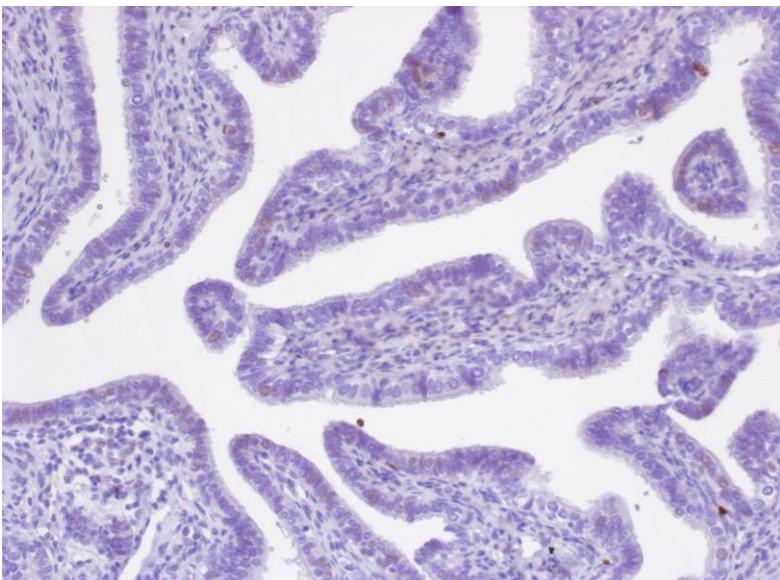
Достоверно значимых различий в экспрессии данных маркеров между образцами с морфологическими признаками ГИЭ и неизмененным эндосальпинксом не выявлено ( $p > 0,05$ ).



**Рисунок 20.**  
Гиперпластические изменения эндосальпинкса у пациентки с серозной пограничной опухолью яичника 200. Окраска гематоксилином и эозином



**Рисунок 21.**  
Гиперпластические изменения эндосальпинкса пациентки с серозной пограничной опухолью яичника, х 200. Слабопозитивная экспрессия p53



**Рисунок 22.**  
Гиперпластические изменения эндосальпинкса у пациентки с серозной пограничной опухолью яичника, х 200. Экспрессия ki-67 (<1%)

## Обсуждение

Согласно данным литературы, термин «гиперплазия эндосальпинкса» (ГЭ) применялся отдельными авторами с 1975 г., однако, достоверные критерии для верификации этой патологии предложены не были [283, 356, 445].

До конца не изученным оставался и вопрос о том, действительно ли ГЭ ассоциирована со серозными пограничными опухолями яичника. Так, S. Robey и E. Silva [356] показали сочетание ГЭ с серозными пограничными опухолями яичника в 68,7% случаев (в группе контроля частота ГЭ была равна 25,9% ( $p < 0,01$ )). В то же время, I. Yanai-Inbar et al. [445] не выявили достоверных различий и четкой ассоциации ГЭ с какой-либо из изученных ими патологий женской репродуктивной системы, в том числе и с серозными пограничными опухолями яичника.

R. Kurman et al. провели исследование патологии маточных труб при сопутствующих серозных пограничных опухолях яичника, учитывая лишь следующие критерии для постановки диагноза ГЭ: наличие мелких округлых кластеров из эпителиальных клеток эндосальпинкса и мелких папиллярных структур в просвете маточной трубы (не менее трех в срезе), которые могут быть ассоциированы с псаммомными тельцами [320]. Считая первостепенным значение формирования папиллярных структур в развитии ГЭ, авторы предложили термин «папиллярная гиперплазия эндосальпинкса».

Нами был предложен термин «гиперпластическое поражение эндосальпинкса» (ГИЭ), включающий в себя совокупность ранее предложенных характеристик.

В нашем исследовании были выявлены статистически значимые различия в отношении таких критериев как плотное расположение складок эндосальпинкса, наличие воспалительного процесса, формирование папиллярных выростов и папиллярных структур в просвет маточной трубы между образцами маточных труб на стороне опухоли, удаленных в

проспективном и ретроспективном периодах и неизменными маточными трубами.

Между образцами маточных труб на стороне опухоли, удаленных у пациенток в ретроспективном и проспективном периодах, также было выявлено достоверное различие по сравнению с образцами неизмененных маточных труб в отношении среднего процента срезов, в котором присутствовали папиллярные структуры, среднего числа папиллярных структур в маточной трубе и среднего числа срезов, в которых присутствовали папиллярные структуры.

Следует отметить, что оценка маточных труб, удаленных до и после 2012 г., проводилась нами отдельно, так как в 2012 г. в патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России начал использоваться протокол для тотального гистологического исследования маточных труб (SEE-FIM протокол), регламентированный для изучения маточных труб при серозных раках яичника/маточных труб/брюшины [249, 286]. Обязательным стало взятие на исследование фимбриального отдела маточной трубы.

Вместе с тем, статистически значимые различия были выявлены практически в отношении всех изученных особенностей эндосальпинкса как для маточных труб, удаленных в ретроспективном, так и в проспективном периодах. Это может свидетельствовать о том, что ГИЭ развивается на всем протяжении маточной трубы, а не только в фимбриальном отделе.

Данное положение подтверждается исследованием R. Kurman et al., в котором для оценки состояния большинства маточных труб у пациенток с серозными пограничными опухолями яичника (68%) были использованы лишь 1–4 среза, однако, признаки ГИЭ выявлены в подавляющем большинстве случаев, и в 75% они диагностированы во всех доступных для исследования срезах [320].

R. Kurman et al. пришли к выводу, что ключевыми критериями для диагностики папиллярной ГЭ являются наличие псаммомных телец и папиллярных структур в просвете маточных труб.

В нашем исследовании убедительно превышали показатели группы маточных труб с неизменным эндосальпинксом и другие критерии: плотное расположение складок эндосальпинкса и формирование папиллярных выростов в просвет маточной трубы, хотя доверительный интервал был несколько меньшим (95% по сравнению с 99% для псаммомных телец и мелких папиллярных структур).

Кроме того, мы отдельно оценивали наличие крупных папиллярных структур (с обильной стромой) и мелких папиллярных структур (со скудной стромой), причем, первые преобладали в маточных трубах с контрлатеральной по отношению к опухоли стороны и в группе неизменных маточных труб, указывая на то, что визуализация данного типа папиллярных структур не имеет диагностического значения для постановки диагноза ГИЭ, и их обнаружение, скорее всего, зависит от плоскостного среза складок эндосальпинкса.

В нашем исследовании в 56% маточных труб со стороны серозной пограничной опухоли, удаленных в ретроспективном периоде, и в 60% маточных труб со стороны серозной пограничной опухоли, удаленных в проспективном периоде, выявлены признаки воспалительного процесса. Схожие результаты получены и R. Kurman (47–71%) [320], что может свидетельствовать о патогенетической связи между воспалением и развитием ГИЭ. Псаммомные тельца были выявлены только в маточных трубах на стороне опухоли у пациенток с серозными пограничными опухолями яичника (в 21% маточных труб в ретроспективном и в 30% в проспективном периодах), что может свидетельствовать об их патогенетической связи (в других исследованиях данные показатели были несколько выше – 50–70%) [283].

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что важными для верификации ГЭ являются не только присутствие псаммомных

телец и папиллярных структур в просвете трубы, но и формирование папиллярных выростов, и плотное расположение складок эндосальпинкса.

При этом, наиболее важные критерии – именно формирование мелких папиллярных выростов и псаммомных телец, что отмечают и другие исследователи [285, 360]. Что касается иммуногистохимических особенностей папиллярной гиперплазии маточной трубы, то в нашем исследовании ни в одном из случаев не было верифицировано предраковое поражение STIC, что косвенно свидетельствует о патогенетических различиях не только серозных карцином низкой и высокой степени злокачественности, но и их возможных предшественников (STIC и ГИЭ) [203, 290].

Результаты проведенного нами исследования свидетельствуют о том, что ГИЭ значительно чаще наблюдается в маточных трубах с серозными пограничными опухолями яичника, что может свидетельствовать о патогенетической связи данных поражений.

Однако ГИЭ были выявлены не во всех случаях серозной пограничной опухоли яичника (73%), и это дает возможность предположить существование как минимум двух путей морфогенеза серозной пограничной опухоли яичника из эпителия маточной трубы. Во-первых, данные опухоли яичника могут развиваться из ГИЭ, во-вторых – из нормального эпителия маточной трубы путем образования в корковом веществе яичника инклюзионных кист, выстланных эпителием типа слизистой оболочки маточной трубы и дальнейшего развития в них пограничной опухоли. Кроме того, применение протокола для тотального исследования маточной трубы позволяет более точно выявлять изменения эндосальпинкса, но не является обязательным для постановки диагноза «ГИЭ».

Следует отметить, что в настоящее время существование двух типов карцином яичника не вызывает сомнения, среди серозных карцином к опухолям I типа относятся LGSC, и серозные пограничные опухоли являются непосредственными предшественниками этих опухолей. Таким образом, в качестве наиболее раннего предшественника LGSC в маточной трубе можно

рассматривать ГИЭ, в ткани яичника – инклюзионные кисты, выстланные эпителием типа слизистой оболочки маточной трубы. Однако морфогенез опухолей II типа, как было показано, в значительной мере отличается от LGSC, а, следовательно, и ранние этапы морфогенеза данные опухоли имеют совершенно иные. В настоящее время хорошо известна морфология STIC, непосредственного предшественника HGSC, однако ранние этапы морфогенеза самой STIC остаются малоизученными, в то время как своевременная возможность их верифицировать позволила бы предотвратить развитие инвазивных поражений маточной трубы и/или яичника. Как уже было отмечено, на начальных этапах морфогенеза STIC происходит изменение характера чередования секреторных и реснитчатых эпителиоцитов слизистой оболочки маточной трубы без их фенотипических изменений, далее изменяется и фенотип клеток, приобретая черты неопластического изменения, характерного для внутриэпителиальных раков (STIC). В данном исследовании мы подробно характеризовали каждый из этих этапов морфогенеза STIC, выделив интраэпителиальные поражения без фенотипического изменения эпителиоцитов и с фенотипическим изменением последних. Полученные данные позволили обосновать алгоритмы для верификации соответствующих поражений и использовать их с прогностической целью.

### **3.3.2. Интраэпителиальные поражения слизистой оболочки маточной трубы**

#### **3.3.2.1. Интраэпителиальные поражения слизистой оболочки маточной трубы без фенотипического изменения эпителиоцитов**

В нашем исследовании к интраэпителиальным изменениям слизистой оболочки маточной трубы без фенотипических изменений мы отнесли участки эндосальпинкса, выстланные только секреторными клетками на протяжении не менее 10 клеток (secretory cell expansion, SCE) и не менее 30 клеток (secretory cell outgrowth, SCOUT), а также SCOUT с умеренной или выраженной экспрессией p53 в  $\geq 75\%$  клеток (p53-signature).

Данные изменения клеток приводятся в литературе с указанием на их возможное значение в морфогенезе HGSC [155, 195, 370, 403].

Для определения значимости выделения более коротких цепочек секреторных клеток из 10 клеток (SCE) нами было проведено сравнительное исследование последних и SCOUT. Исследовано по 5-6 фрагментов маточной трубы с обязательным взятием участков истмического, ампулярного и фимбриального отделов маточной трубы. Для исследования зависимости экспансии секреторных клеток от возраста, все пациентки были разделены на следующие группы: от 26 до 35, от 36 до 45, от 46 до 55, от 56 до 65 и от 66 до 75 лет.

Результаты сопоставления показателей экспансии секреторных клеток с возрастом пациенток с помощью непараметрического корреляционного анализа по Спирмену представлены в табл. 8. Согласно полученным данным, между показателем SCE и возрастом пациенток при всех исследуемых формах патологии были установлены прямые статистически значимые связи, теснота которых по шкале Чеддока была от заметной (в случаях HGSC и серозных пограничных опухолей) до высокой (в случаях серозных цистаденом или цистаденофибром и внеовариальной патологии), уровень значимости соответствовал  $p < 0,001$ .

Показатель SCOUT также имел прямые статистически значимые корреляционные связи с возрастом во всех случаях, кроме HGSC, при которых уровень значимости связи составил  $p = 0,089$ .

Теснота связи SCOUT и возраста по шкале Чеддока была от слабой при серозных пограничных опухолях до высокой при внеовариальной патологии.

Кроме того, был произведен подсчет и сравнение с помощью критерия Уилкоксона количества SCE и SCOUT в фимбриальном, ампулярном и истмическом отделе маточной трубы при различных патологиях (табл. 9). Различия количества SCE и SCOUT при сравнении истмического и ампулярного отделов маточной трубы были, в основном, несущественны.

**Таблица 8.** Медианы общего количества интраэпителиальных поражений без фенотипических изменений, характеризующихся непрерывно расположенными 10 (SCE) и 30 (SCOUT) секреторными клетками в маточных трубах пациенток разных возрастных групп при серозных опухолях яичника и внеовариальной патологии, Me (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>)

SCE/ SCOUT	Возраст пациентов, полных лет					r Спирмена, р
	26-35	36-45	46-55	56-65	66-75	
<b>Внеовариальная патология</b>						
SCE	1 (0-1)	3 (2-4,5)	3 (2-5)	7 (5-8)	12,5 (6-14)	0,831; <0,001*
SCOUT	0**	0 (0-0)	1 (0-2)	1 (0,5-4,5)	3,5 (2-6)	0,716; <0,001*
<b>Серозная цистаденома / цистаденофиброма</b>						
SCE	1 (1-2)	4 (2-6)	4 (2-5,5)	7 (5,5-8)	11 (6-13)	0,705; <0,001*
SCOUT	0**	1 (0-2)	1 (0-2)	1 (0-4,5)	3 (2-6)	0,576; <0,001*
<b>Серозные пограничные опухоли</b>						
SCE	2 (2-2,5)	3,5 (2-5)	4 (2-5)	7,5 (2-12)	12 (8,5-13)	0,531;<0,001*
SCOUT	0 (0-1)	1 (0-2)	1 (0,5-3,5)	1 (0-3)	3 (2-4,5)	0,286; 0,014*
<b>Серозные карциномы высокой степени злокачественности</b>						
SCE	н/д	12 (10,5-14,5)	28 (19-34)	37 (34-39)	44 (41-46,5)	0,672; <0,001*
SCOUT	н/д	3 (2,5-4)	4 (3-7)	5,5 (2-10,5)	6,5 (4-12)	0,206; 0,089

\* - различия показателей статистически значимы (p<0,05)

\*\* - значение является константой для данной возрастной подгруппы

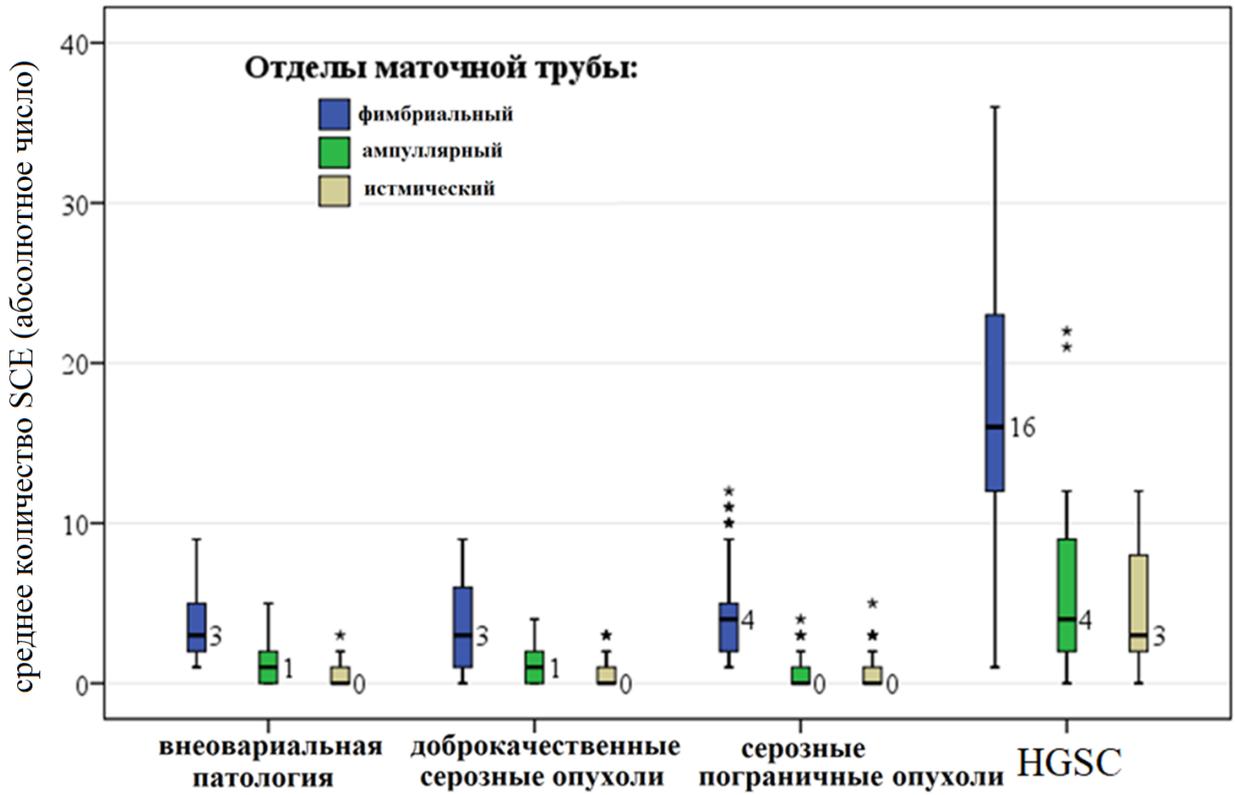
**Таблица 9.** Медианы количества интраэпителиальных поражений без фенотипических изменений, характеризующихся непрерывно расположенными 10 (SCE) и 30 (SCOUT) секреторными клетками в различных отделах маточных труб пациенток с серозными опухолями яичника и внеовариальной патологией, Me ( $Q_1$ - $Q_3$ )

SCE / SCOUT	Исследуемый отдел маточной трубы			Уровень значимости		
	1. фимбрии	2. ампула	3. перешеек	p1-2	p1-3	p2-3
<b>Внеовариальная патология</b>						
SCE	3 (2-5)	1 (0-2)	0 (0-1)	<0,001*	<0,001*	0,002*
SCOUT	1 (0,75-2)	0 (0-0)	0 (0-0)	<0,001*	<0,001*	0,841
<b>Серозная цистаденома / цистаденофиброма</b>						
SCE	3 (1-6)	1 (0-2)	0 (0-1)	<0,001*	<0,001*	0,003*
SCOUT	1 (0-2)	0 (0-0)	0 (0-0)	<0,001*	<0,001*	0,027*
<b>Серозные пограничные опухоли</b>						
SCE	4 (2-5)	0 (0-1)	0 (0-1)	<0,001*	<0,001*	0,281
SCOUT	1 (0-2)	0 (0-0)	0 (0-0)	<0,001*	<0,001*	0,343
<b>Серозные карциномы высокой степени злокачественности</b>						
SCE	16 (12-23)	4 (2-9)	3 (1-8)	<0,001*	<0,001*	0,284
SCOUT	2 (2-4)	1 (0-3)	0 (0-0)	<0,001*	<0,001*	<0,001*
p <sub>SCE</sub> I-III	0,591	0,008*	0,201			
p <sub>SCE</sub> I-IV	<0,001*	<0,001*	<0,001*			
p <sub>SCOUT</sub> I-III	0,973	0,676	0,311			
p <sub>SCOUT</sub> I-IV	<0,001*	<0,001*	0,286			

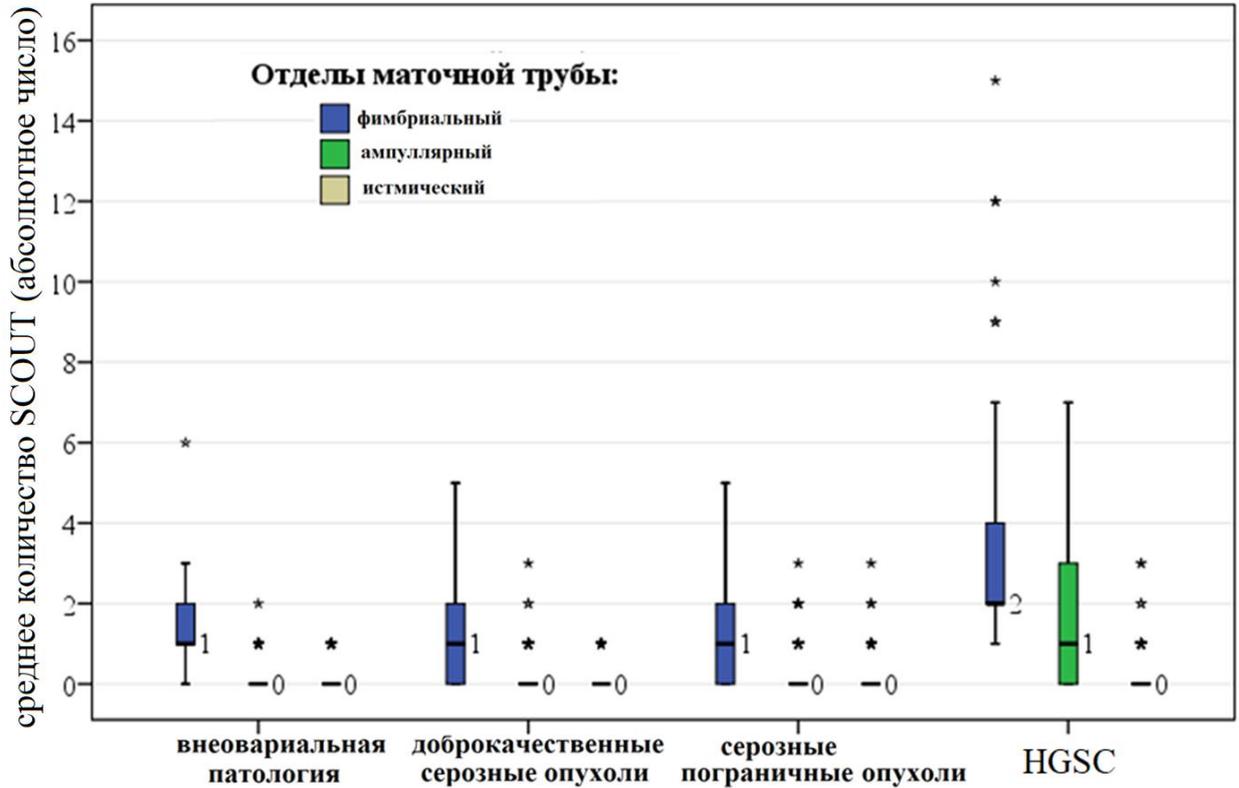
Количество SCE было несколько выше в ампулярном отделе при серозных цистаденомах или цистаденофибромах, а также при внеовариальной патологии ( $p=0,003$  и  $p=0,002$ , соответственно). Количество SCOUT в ампуле маточной трубы по сравнению с истмическим отделом было статистически значимо выше при серозных цистаденомах или цистаденофибромах и серозных аденокарциномах ( $p=0,027$  и  $p < 0,001$ , соответственно). При сопоставлении количества SCE и SCOUT между фимбриальным и другими отделами маточной трубы были выявлены статистически значимые различия во всех случаях ( $p < 0,001$ ). В фимбриальном отделе отмечались существенно более высокие показатели экспансии секреторных клеток, чем в ампулярной или истмической частях.

Также следует отметить отсутствие статистически значимых различий количества SCE (за исключением ампулярного отдела маточной трубы) и SCOUT при сопоставлении показателей с помощью критерия Краскела-Уоллиса у пациенток с серозными пограничными опухолями, серозными цистаденомами или цистаденофибромами яичника и внеовариальной. При сравнении указанных форм патологии с серозными аденокарциномами яичника были установлены статистически значимые различия SCE и SCOUT во всех отделах маточной трубы ( $p < 0,001$ ), за исключением количества SCOUT в истмическом отделе ( $p=0,286$ ).

Установленная зависимость количества SCE и SCOUT от локализации в определенном отделе маточной трубы при различных опухолях яичника и внеовариальной патологии графически отражена на **рис. 23 и 24**, соответственно.



**Рисунок 23.** Среднее количество SCE в различных отделах маточных труб пациенток при внеовариальной патологии и серозных опухолях яичника



**Рисунок 24.** Среднее количество SCOUT в различных отделах маточных труб пациенток при внеовариальной патологии и серозных опухолях яичника

Количество SCE в фимбриальном отделе маточных труб варьировало от 0 до 57, медиана показателя составляла от 3 ( $Q_1$ - $Q_3$ : 2-5) при внеовариальной патологии до 16 ( $Q_1$ - $Q_3$ : 12-23) – при HGSC. Такая же тенденция наблюдалась и в отношении количества SCOUT, медиана которого составляла от 1 ( $Q_1$ - $Q_3$ : 0,75-2) при внеовариальной до 2 ( $Q_1$ - $Q_3$ : 2-4) – при HGSC. Следует отметить, что в фимбриальном отделе была продемонстрирована значительно большая разница в выявляемости SCE между группами пациенток с внеовариальной патологией и серозными карциномами яичника (в 5,3 раза), чем в выявляемости SCOUT между теми же группами (в 2 раза).

В исследованиях, проведенных в последнее десятилетие, было показано, что секреторные клетки эпителия маточной трубы являются источником развития серозных карцином высокой степени злокачественности в тазовой области. Поэтому, большинство авторов в качестве самого раннего события в морфогенеза данных опухолей считает SCOUT [326, 371].

Однако, в норме эпителий маточной трубы состоит из секреторных и реснитчатых клеток, которые организованы таким образом, что подряд располагаются не более 10 клеток одного типа. Именно поэтому в нашем исследовании была исследована выявляемость SCE, участки, выстланные только секреторными клетками в количестве не менее 10. Было показано, что распространенность SCE выше во всех исследуемых группах и при всех возрастах. Как SCE, так и SCOUT чаще выявлялись при HGSC, однако, SCE показал большую чувствительность, чем SCOUT (в 1,7 раза). На основании данных наблюдений мы предполагаем, что SCE может стать более точным маркером ранних этапов морфогенеза HGSC, не требующим дополнительных исследований.

Данные, полученные в нашем исследовании, подтверждены и в некоторых зарубежных наблюдениях, посвященных начальным нарушениям клеточного состава эпителия слизистой оболочки маточной трубы [141, 190].

## Иммуногистохимическое исследование

Для выявления особенностей иммунофенотипа SCE и SCOUT было проведено исследование экспрессии PAX2, Vcl-2,  $\beta$ -catenin. При этом большинство SCE и SCOUT характеризовались отсутствием экспрессии PAX2 и выраженной экспрессией Vcl-2. Исключение составили 5 PAX2-негативных SCE со слабой экспрессией Vcl-2 и 8 PAX2-позитивных SCE, имеющих сильную экспрессию Vcl-2. Для  $\beta$ -catenin в неизменном эпителии характерно мембранное окрашивание (от умеренного до сильного), в то время как в области SCE и SCOUT отмечалась выраженная ядерная и цитоплазматическая окраска.

При сопоставлении результатов оценки экспрессии маркеров были установлены статистически значимые различия, представленные в табл. 10.

**Таблица 10.** Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии PAX2, Vcl-2 и  $\beta$ -catenin в клетках неизменной слизистой оболочки маточных труб, интраэпителиальных поражений маточной трубы и HGSC (Me ( $Q_1$ - $Q_3$ ) в баллах) \*

Маркер	Неизмен. эпителий	SCE	SCOUT	HGSC	p
	(n=30)	(n=30)	(n=30)	(n=30)	
	1	2	3	4	
PAX-2	3 (3-3)	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (0-1)	$P_{1-4} < 0,001^*$
Vcl-2**	2 (2-3)	2 (2-3)	2,5 (1-3)	0 (0-1)	$P_{1-4}, P_{2-4}, P_{3-4} < 0,001^*$
$\beta$ -catenin	0 (0-1)	3 (3-3)	3 (3-3)	0 (0-1)	$P_{1-2}, P_{1-3}, P_{2-4}, P_{3-5} < 0,001^*$

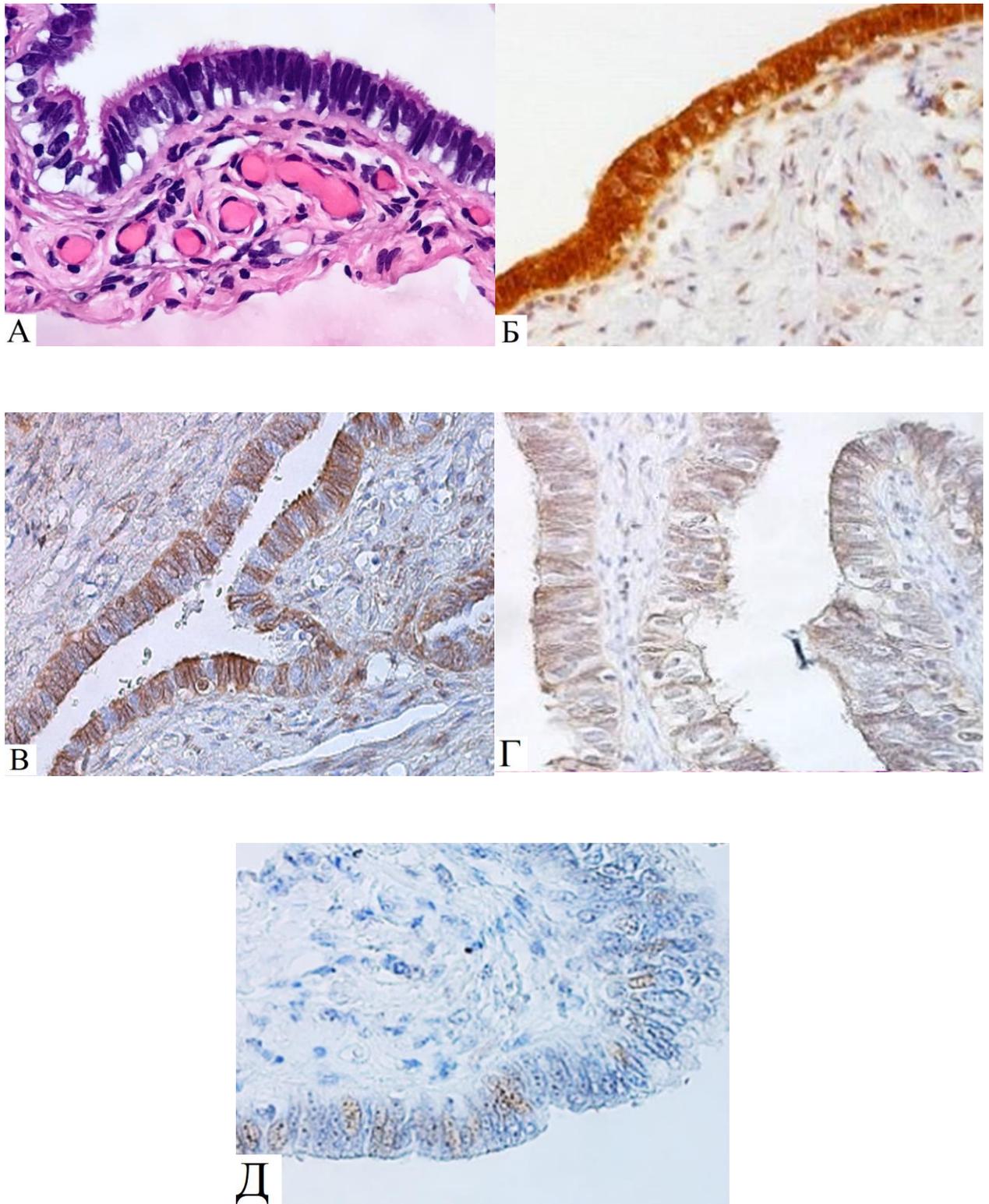
\*Показатели представлены в виде Me ( $Q_1$ - $Q_3$ ), где Me – медиана,  $Q_1$  – первый квартиль (25%),  $Q_3$  – третий квартиль (75%).

Следует отметить, что при анализе областей STIC и HGSC статистически значимых различий выявлено не было в отношении всех исследуемых маркеров ( $p > 0,05$ ). Экспрессия исследуемых маркеров в области SCE, SCOUT, STIC и HGSC представлена на **рис. 25-27**.

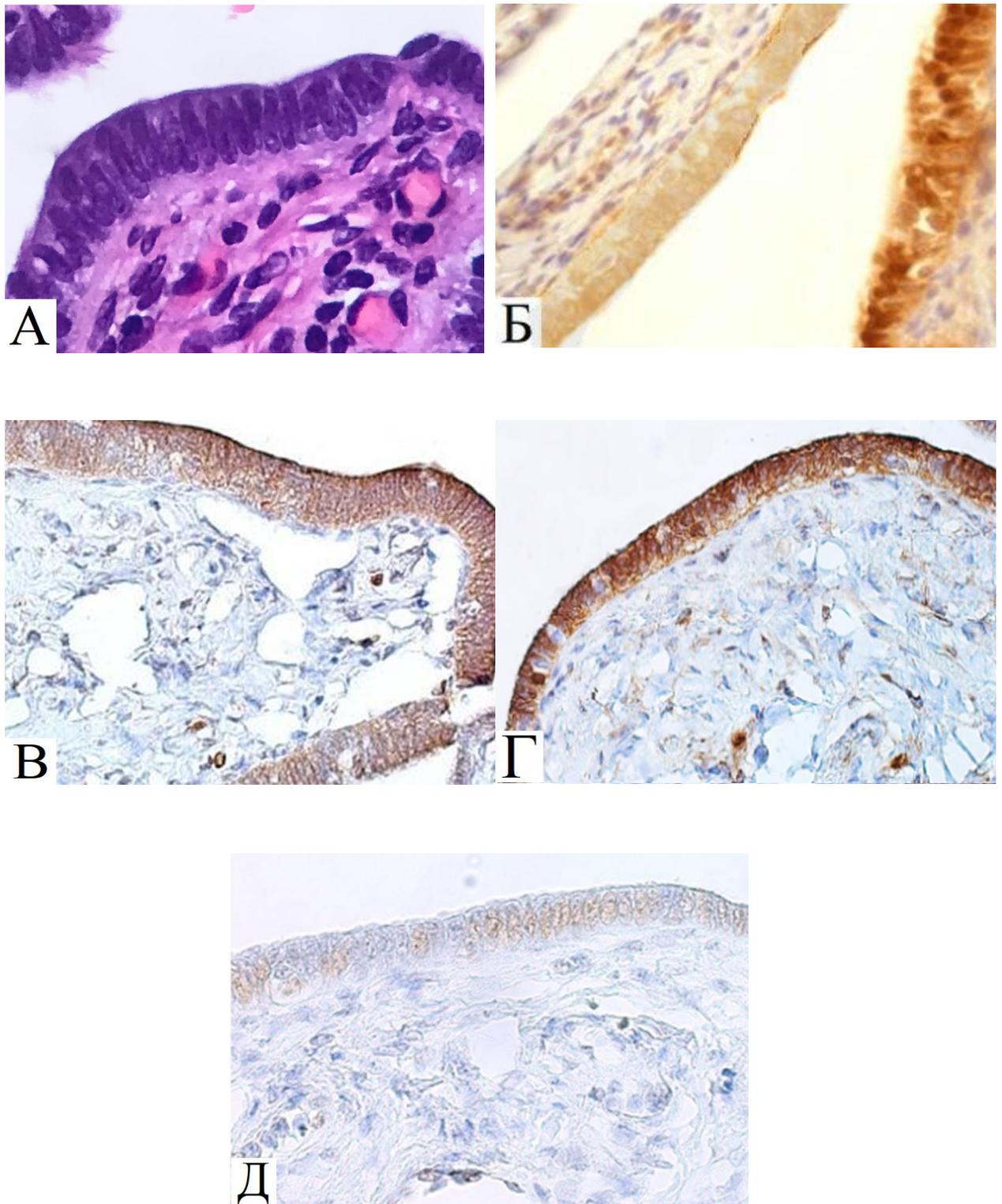
Для подтверждения природы интраэпителиальных поражений также приведена экспрессия p53, базового диагностического маркера для HGSC и STIC. Отмечено, что лишь небольшая часть SCOUT характеризуется выраженной экспрессией p53 и может быть отнесена к p53-signature (в нашем исследовании – 16%).

Следует отметить, что в экспериментальных исследованиях уже была показана связь между PAX2, Bcl-2 и p53. Однако, если, например, в ткани почки было показано, что PAX2 обладает позитивным влиянием на экспрессию Bcl-2, координируя процесс апоптоза [111], то в интраэпителиальных поражениях маточной трубы наблюдается обратная зависимость – при отсутствии экспрессии PAX2 наблюдается усиленная экспрессия Bcl-2 [151, 318].

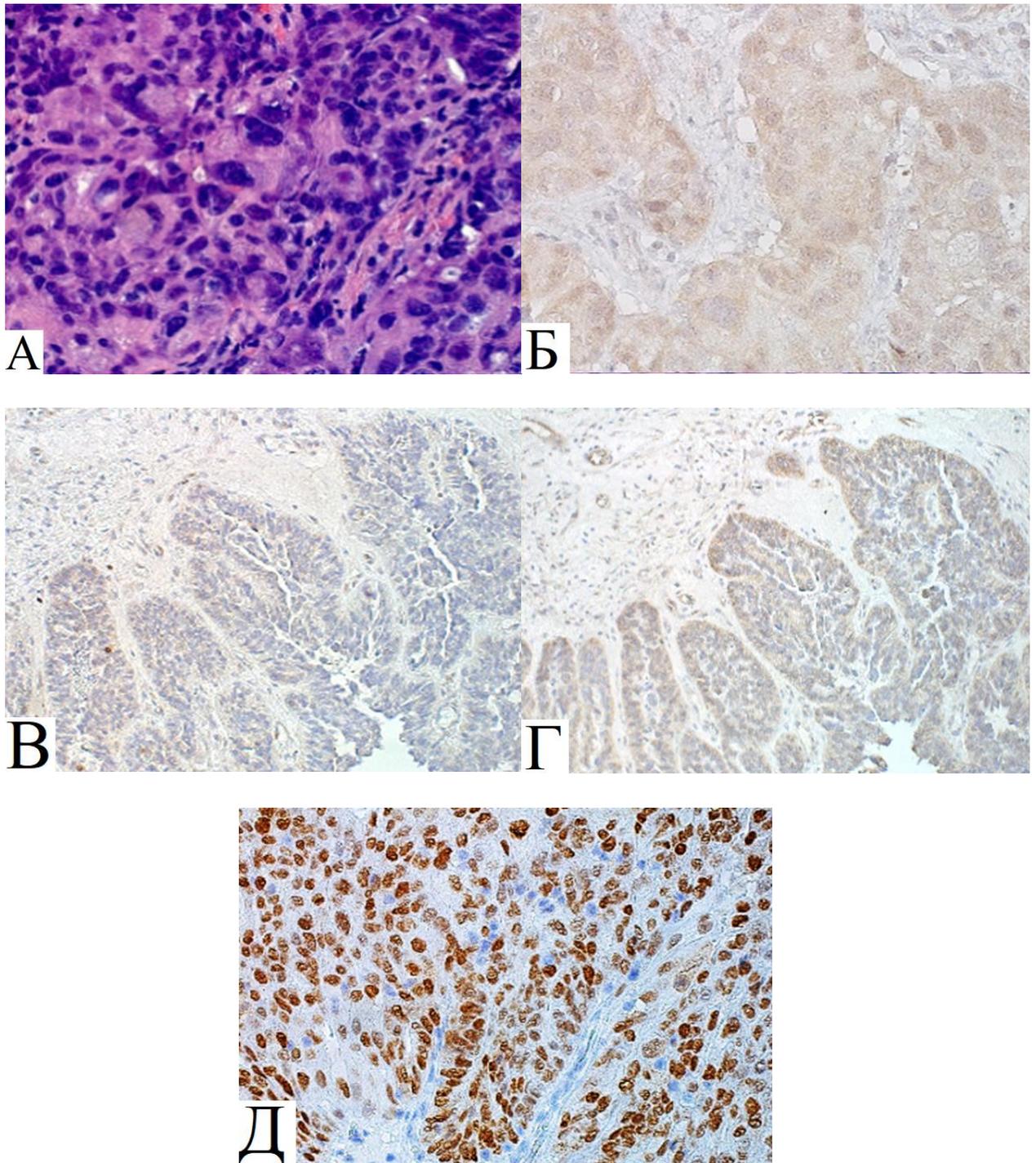
В то время как неизменённый эпителий маточной трубы имеет высокий уровень экспрессии PAX2, нами и другими авторами было показано отсутствие экспрессии данного маркера в большинстве SCE и SCOUT. В то же время большая часть HGSC имеют мутации в гене TP53, но только в 16-25% SCOUT отмечают умеренную/выраженную экспрессию p53 (p53-signature) [371]. Было показано, что p53-signature демонстрируют отсутствие экспрессии PAX2, что позволяет предположить ступенчатое развитие данных интраэпителиальных поражений маточной трубы, которые были хорошо изучены и описаны в ряде исследований [261, 337, 436].



**Рисунок 25.** Структурные и иммунофенотипические особенности участка неизменной слизистой оболочки маточной трубы (А–чередование секреторных и реснитчатых клеток, окраска гематоксилином и эозином, Б–выраженная экспрессия PAX2, В–очаговая экспрессия bcl2, Г–слабовыраженная цитоплазматическая экспрессия  $\beta$ -catenin, Д–слабовыраженная экспрессия p53, х 400).



**Рисунок 26.** Структурные и иммунофенотипические особенности SCE и SCOUT (А – непрерывно расположенные секреторные клетки в слизистой оболочке маточной трубы, окраска гематоксилином и эозином, Б – отсутствие экспрессии PAX2, В – выраженная экспрессия bcl2, Г – выраженная ядерная и цитоплазматическая экспрессия  $\beta$ -catenin, Д – слабовыраженная экспрессия p53, х 400)



**Рисунок 27.** Структурные и иммунофенотипические особенности HGSC (А–опухолевая ткань, построенная из крупных полиморфных клеток с гиперхромным ядром, высокой митотической активностью, окраска гематоксилином и эозином, Б–отсутствие экспрессии PAX2, В–отсутствие экспрессии bcl2, Г–отсутствие экспрессии  $\beta$ -catenin, Д–выраженная экспрессия p53, x 400).

Тот факт, что в области PAX2-негативных SCOUT отмечается слабовыраженная экспрессия p53, в то время как в других тканях неизмененный белок p53 является стимулятором экспрессии PAX2 [325] можно объяснить, во-первых, тем, что в эпителии маточной трубы p53- и PAX2- сигнальные пути работают независимо друг от друга, а, во-вторых, тем, что функция белка p53 на этапе формирования PAX2- негативных SCOUT уже может быть нарушена, хотя «мутантный» белок еще не секретируется. При исследовании  $\beta$ -catenin ранее было показано, что на основании особенностей окрашивания (только мембранное или мембранное и ядерное) можно выделить два типа SCOUT, являющихся последовательными этапами морфогенеза интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы [415]. Однако, в нашем исследовании мы такого подразделения не проводили, поскольку в отношении других исследуемых нами маркеров различий между выделенными G. Ning и соавт. типами SCOUT выявлено не было, и убедительного доказательства разной природы таких SCOUT не показано. В то же время, усиление экспрессии  $\beta$ -catenin играет важную роль в развитии SCOUT, отражая нарушение регуляции сигнального пути p53, важным компонентом которого он является.

В предыдущих исследованиях было показано, что поражения, представляющие собой участки слизистой оболочки маточной трубы, состоящие только из секреторных клеток (SCE и SCOUT) являются изменениями, в которых происходит нарушение репарации ДНК, однако мутаций в гене *TP53*, которые характерны для более поздних этапов морфогенеза STIC, не отмечается [151]. В то же время, как в нашем исследовании, так и зарубежными авторами было показано, что распространенность SCOUT значительно выше в маточных трубах пациенток при HGSC [204, 289]. Именно поэтому мы рассматриваем SCE и SCOUT в качестве наиболее ранних изменений слизистой оболочки маточной трубы, а изучение их молекулярных особенностей позволит уточнить механизм развития STIC и HGSC.

Таким образом, нами было показано, что пролиферация секреторных клеток является самостоятельным интраэпителиальным поражением. Выявляемость данного поражения увеличивалась с возрастом, а также достоверно различалась между маточными трубами при внеовариальной патологии и злокачественных серозных опухолях яичника (в 5,3 раза), при этом по количеству SCOUT данные группы различались всего в 2 раза. На основании этих данных мы можем заключить, что SCE может служить более чувствительным маркером ранних этапов морфогенеза HGSC. Также нами продемонстрированы особенности фенотипа SCE и SCOUT, которые отличают их как от неизменённой слизистой оболочки маточной трубы, так и от поражений, характерных для более поздних этапов морфогенеза STIC.

Следует отметить, что была показана самостоятельность интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы без фенотипических изменений и возникновение их на ранних этапах морфогенеза STIC. Эти данные позволяют предположить, что верификация данных изменений в маточной трубе пациенток, которым была проведена оппортунистическая сальпингэктомия, позволит определить риск развития начальных этапов HGSC при отсутствии STIC в фимбриальном отделе маточной трубы или невозможности ее обнаружения. В связи с этим в следующем разделе будет изложена концепция использования SCE и SCOUT для вычисления функции, результат которого позволяет отнести пациентку к группе высокого или низкого риска наличия HGSC.

### 3.3.2.2.1. Алгоритм определения риска развития серозной карциномы высокой степени злокачественности на основании параметрических показателей секреторных клеток слизистой оболочки маточной трубы и возраста пациенток

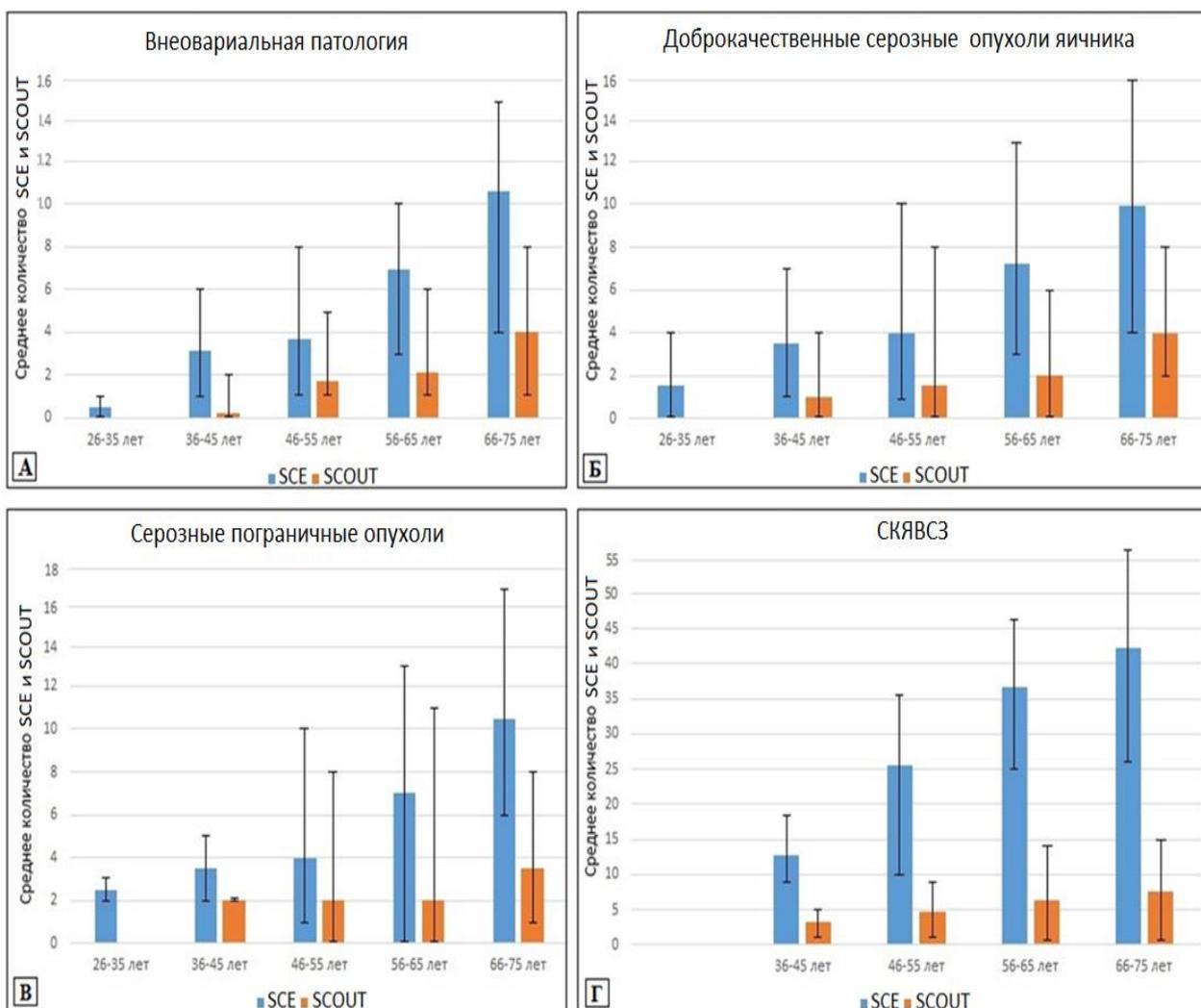
На основании полученных данных о количестве, возрастных особенностях и распределении вариантов изменения чередования секреторных клеток – SCE и SCOUT – нами была проведена работа по статистическому анализу полученных данных с целью поиска закономерности развития данных изменений в слизистой оболочке маточной трубы и определения возможности использования данных показателей с прогностической целью.

Зависимость количества SCE у пациенток с HGSC от возраста была изучена методом парной линейной регрессии. В результате было получено следующее уравнение (1):

$$SCE = 0,974 * BOЗ - 23,84 \quad (1),$$

где SCE – количество SCE в маточных трубах при серозных карциномах яичника, BOЗ – возраст женщины (полных лет).

Исходя из значения коэффициента регрессии, увеличение возраста на 1 год сопровождается ростом количества SCE на 0,926. Наблюдаемая зависимость характеризовалась коэффициентом корреляции Пирсона  $r_{xy} = 0,862$ , что по шкале Чеддока соответствовало ее высокой тесноте. Уровень значимости корреляционной связи составил  $p < 0,001$ . Согласно коэффициенту детерминации  $R^2$ , возрастной фактор определяет 74,3% дисперсии показателя количества SCE. Графически зависимость количества SCE и SCOUT от возраста пациенток при изучаемой патологии представлена на **рис. 28**



**Рисунок 28.** Встречаемость интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы без фенотипических изменений в зависимости от патологии репродуктивной системы и возраста пациенток: при всех видах изучаемой патологии отмечается увеличение встречаемости SCE и SCOUT с увеличением возраста.

Зависимость количества SCOUT от возраста может быть описана следующим уравнением парной линейной регрессии (2):

$$\text{SCOUT} = 0,178 \cdot \text{ВОЗ} - 4,535 \quad (2),$$

где SCOUT – количество SCOUT в маточных трубах при HGSC, ВОЗ – возраст женщины (полных лет).

Согласно полученному значению коэффициента регрессии, между показателями отмечалась прямая связь: увеличение возраста женщины на 1 год сопровождается ростом количества SCOUT на 0,178 ( $p=0.003$ ).

Коэффициент корреляции Пирсона составил  $r_{xy} = 0,35$ , что соответствует умеренной тесноте корреляционной связи по шкале Чеддока.

Исходя из значения коэффициента детерминации  $R^2$ , возрастной фактор определяет 12,2% дисперсии показателя количества SCOUT.

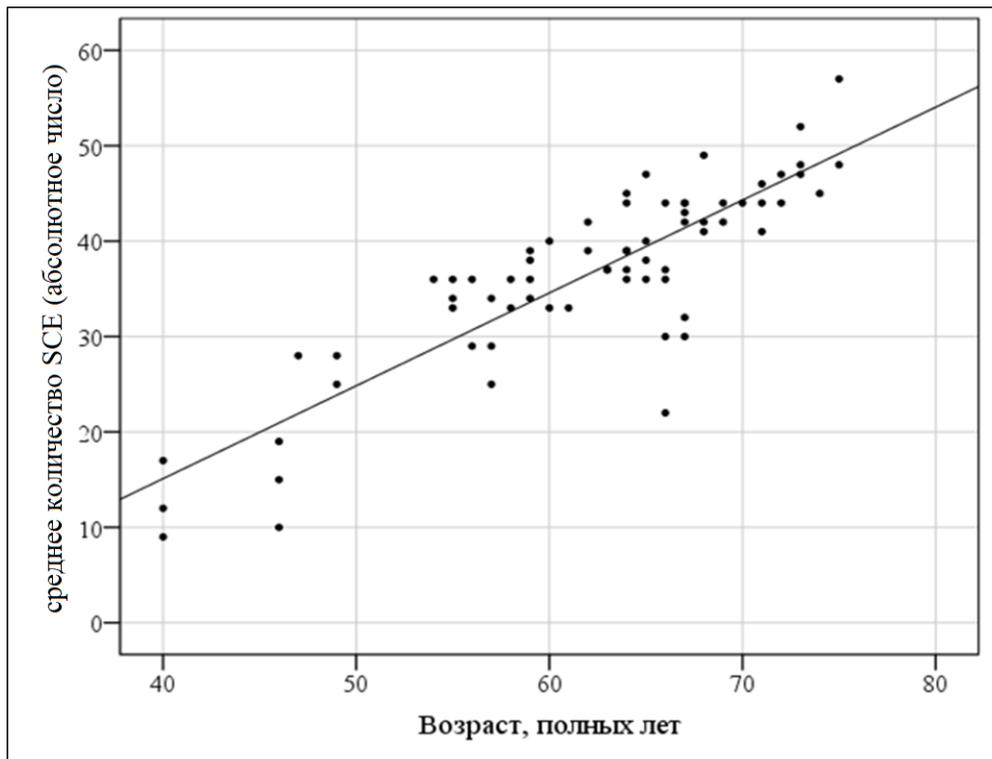
График регрессионной функции, описывающей зависимость количества SCE и SCOUT от возраста пациенток при HGSC, представлен на **рис. 29 и 30**.

Возможность прогнозирования HGSC, исходя из показателей SCE и SCOUT в маточных трубах с учетом возраста пациенток, была изучена с помощью метода дискриминантного анализа. При построении прогностической модели использовался метод шагового отбора, в результате в уравнение дискриминантной функции (3) были включены все исследуемые факторы:

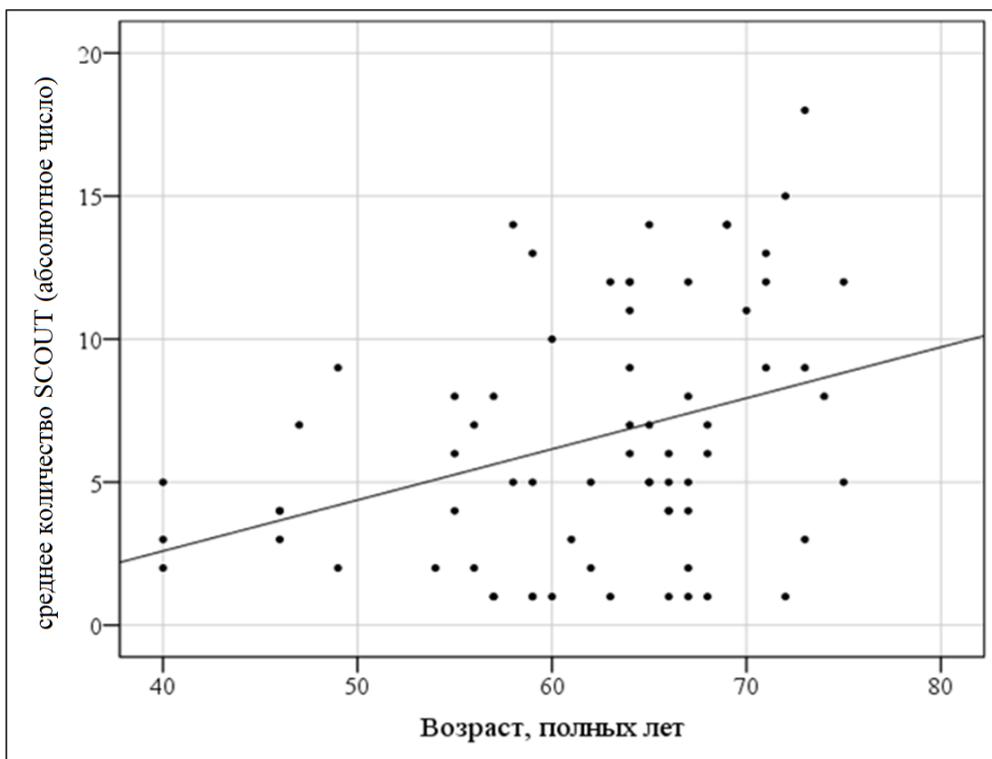
$$\text{HGSC} = 0,22 * \text{SCE} + 0,055 * \text{SCOUT} - 0,068 * \text{ВОЗ} + 0,72 \quad (3),$$

где HGSC – дискриминантная функция, характеризующая вероятность серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности по приведенному ниже алгоритму, SCE – количество SCE в маточных трубах, SCOUT – количество SCOUT в маточных трубах, ВОЗ – возраст пациентки (полных лет).

Исходя из значений коэффициентов при факторных переменных, вероятность HGSC увеличивалась с ростом количества SCE и SCOUT, при этом, чем в более молодом возрасте отмечался рост участок чередования секреторных и реснитчатых клеток, тем в большей степени это свидетельствовало о наличии HGSC.



**Рисунок 30.** Статистический анализ встречаемости SCE в зависимости от возраста пациенток при HGSC



**Рисунок 31.** Статистический анализ встречаемости SCOUT в зависимости от возраста пациенток при HGSC

Исходя из значений коэффициентов при факторных переменных, вероятность HGSC увеличивалась с ростом количества SCE и SCOUT, при этом, чем в более молодом возрасте отмечался рост участков чередования секреторных и реснитчатых клеток, тем в большей степени это свидетельствовало о наличии HGSC.

Константа дискриминации, разделяющая исследуемых на две группы, определялась как значение функции (3), равноудаленное от центроидов, составивших в группе женщин с серозной карциномой яичника 4,886, а при ее отсутствии  $-1,561$ . Соответственно, константа дискриминации составила 1,663. Таким образом, при значении функции HGSC более 1,663 женщина относилась к группе высокого риска серозных карцином яичника, при значении функции менее 1,663 – относилась к группе низкого риска.

Статистическая значимость различий дискриминантной функции в обеих группах подтверждалась значением коэффициента  $\lambda$  Уилкса, составившим 0,115 при уровне значимости  $p < 0,001$ .

Согласно полученным данным, общий процент верно классифицированных исходных наблюдений (диагностическая эффективность) составил 98,2%. Чувствительность используемой функции составила 92,8%, специфичность – 100,0%, что свидетельствует о большей вероятности ложноотрицательных результатов.

Следует отметить, что 5 женщин, у которых ошибочно было предсказано отсутствие HGSC при фактическом его наличии, имели возраст от 40 до 46 лет и были самыми молодыми в группе исследуемых с данным заболеванием. Таким образом, возраст младше 47 лет можно считать ограничением для практического применения прогностической формулы (3).

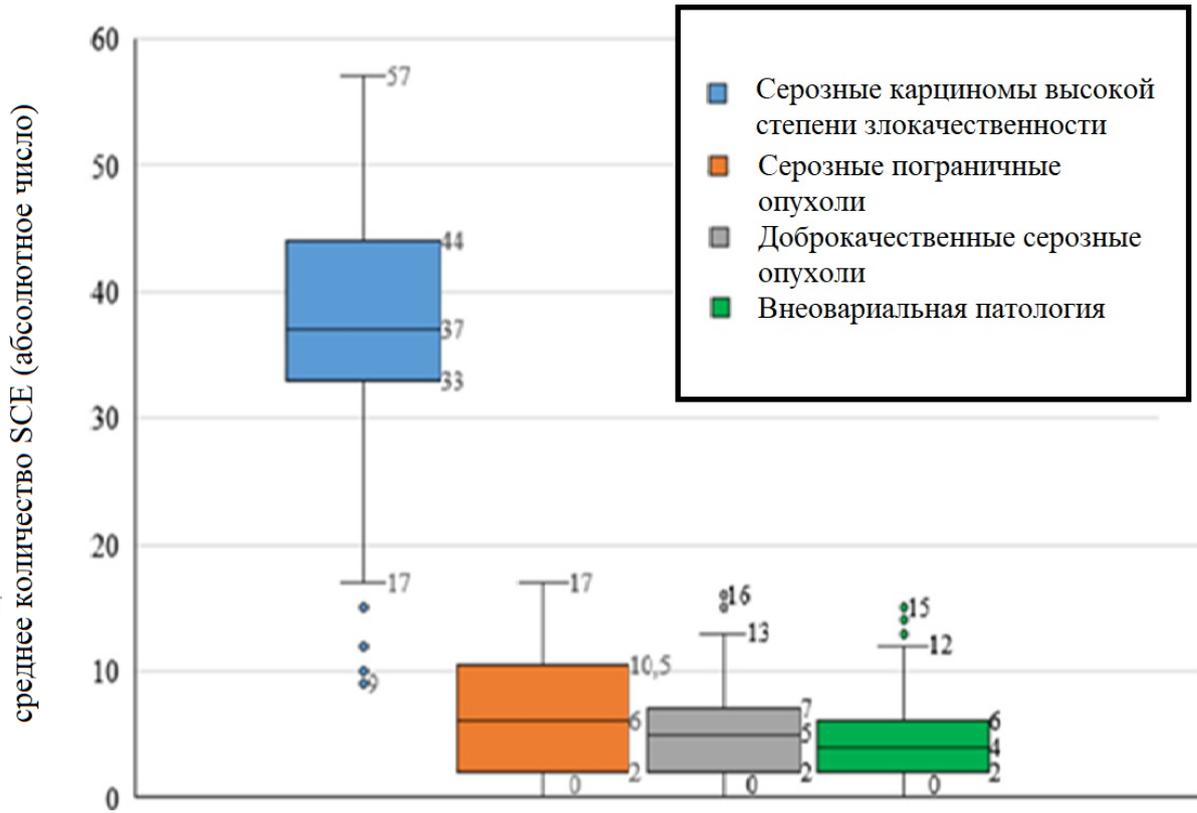
Учитывая выявленную прямую взаимосвязь риска HGSC и количества SCE и SCOUT, нами были дополнительно рассмотрены значения этих участков в зависимости от наличия определенной патологии яичника или внеовариальной патологии. В связи с тем, что показатели имели

распределение отличное от нормального, результаты были представлены в виде ящичных диаграмм с указанием медиан, нижнего и верхнего квартилей, минимального и максимального значений (**рис. 28 А и Б**).

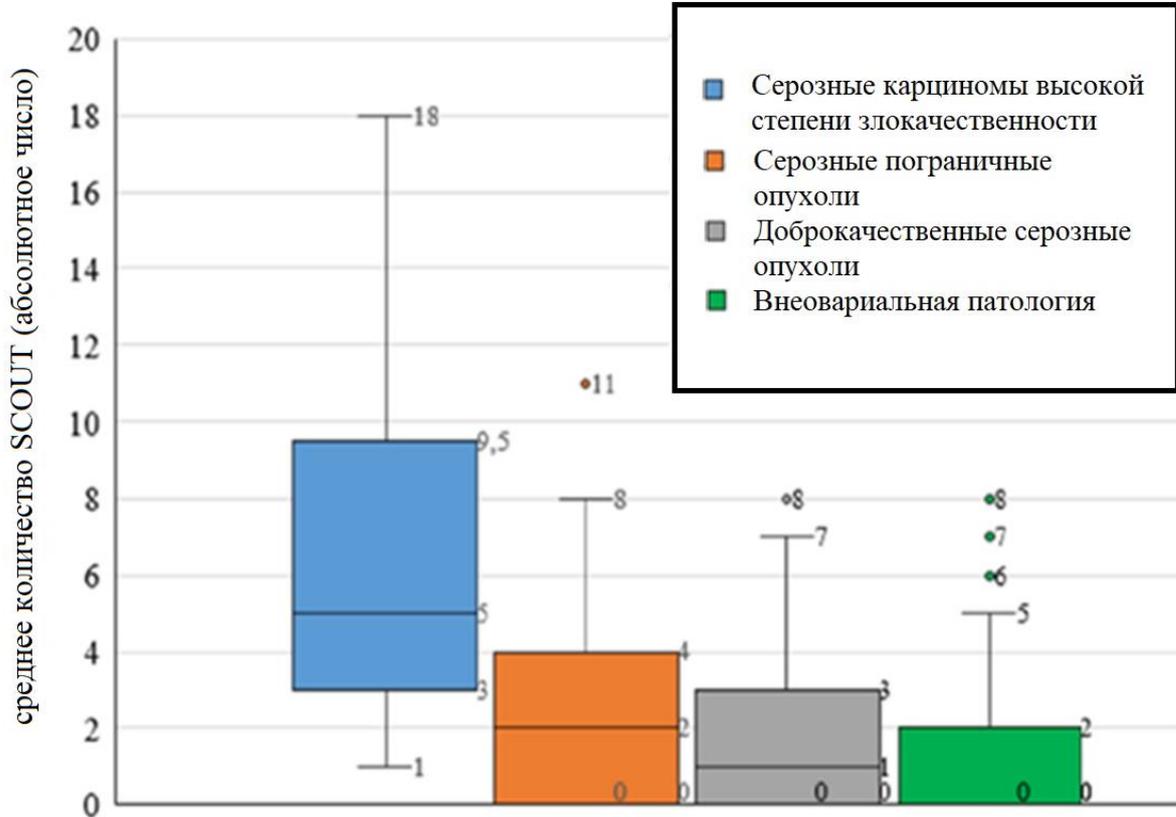
В соответствии с представленными данными, HGSC сопровождались существенным ростом количества SCE по сравнению с другими формами патологии.

При исключении «выскакивающих» вариант, минимальное количество SCE у пациенток с серозными карциномами составило 17, тогда как среди остальных исследуемых это значение показателя было наивысшим возможным. При сравнении количества SCE в зависимости от формы патологии с помощью критерия Краскела-Уоллиса были установлены статистически значимые различия ( $p < 0,001$ ). Такой же уровень значимости отмечался при проведении парных сравнений количества SCE в группе пациенток с HGSC и каждой из групп с другой патологией с помощью критерия Манна-Уитни (**рис. 31,32**).

Как показали результаты проведенного статистического анализа, группа пациенток с HGSC также отличались более высоким количеством SCOUT. Медиана показателя при данной патологии составила 5, значения нижнего и верхнего квартилей – 3 и 9,5, соответственно. Медиана количества SCOUT при пограничных опухолях яичника составила 2 (ИКР 0-4), при серозных цистаденомах / цистаденофибромах – 1 (ИКР 0-3), при внеовариальной патологии – 0 (ИКР 0-2). Различия показателей в зависимости от формы патологии были статистически значимы ( $p < 0,001$ ), также были существенными различия при парных сравнениях группы пациенток с HGSC и пациенток с другими формами патологии ( $p < 0,001$ ).



**Рисунок 31.** Статистический анализ встречаемости SCE в зависимости от патологии репродуктивной системы и возраста пациенток.



**Рисунок 32.** Статистический анализ встречаемости SCOUT в зависимости от патологии репродуктивной системы и возраста пациенток.

Известно, что герминогенные мутации ответственны за развитии лишь небольшой части HGSC, большинство из которых возникают спорадически, [222], таким образом, чаще всего, предрасположенность к развитию HGSC остается неисследованной даже при оценке BRCA-статуса. Именно поэтому, поиск независимых факторов риска данных опухолей является важнейшей социальной и медицинской задачей для морфологов и онкологов во всем мире.

В настоящее время фимбриальный отдел маточной трубы, как полагают, является основным источником развития серозных карцином высокой степени злокачественности. Поэтому наиболее пристально изучается именно состояние эпителия маточной трубы в морфогенезе данных опухолей. В эпителии маточной трубы различают три типа клеток – реснитчатые, секреторные и вставочные клетки, причем, последние, как полагают, являются предшественниками секреторных и обладают прогениторными свойствами [192].

В ряде работ было показано, что именно в секреторных клетках происходят изменения, дающие начало развития HGSC.

Как уже упоминалось, полагают, что на первом этапе происходит изменение чередования секреторных и реснитчатых клеток эпителия слизистой оболочки маточной трубы таким образом, что реснитчатые клетки не перемежаются с секреторными на отдельных участках, образуются непрерывные цепочки секреторных клеток, затем возникает мутация в гене *TP53* с развитием p53-signature, далее происходит накопление мутаций в других генах, изменение морфологии клеток с развитием серозного трубного интраэпителиального поражения (STIL) и, наконец, возникновение мутаций BRCA1/2 с образованием STIC [159].

Наиболее ранним изменением слизистой оболочки маточной трубы до недавних пор считалось образование в слизистой оболочке маточной трубы участков, выстланных не менее, чем 30-ю непрерывно расположенными секреторными клетками (SCOUT) [407].

Было также показано, что встречаемость SCOUT при HGSC значительно выше, чем при других опухолях яичника и высказано предположение о том, что SCOUT может служить потенциальным маркером HGSC [415].

Однако, в ряде работ было показано, что наиболее оправданным является участок эпителия маточной трубы, выстланный не менее, чем 10-ю непрерывно расположенными секреторными клетками (SCE), поскольку именно такой участок является наименьшим по числу непрерывно расположенных секреторных клеток, отличающимся от неизменного эпителия.

Нами был проведен анализ зависимости количества участков эпителия маточной трубы, состоящих только из секреторных клеток (SCE и SCOUT) от патологии репродуктивной системы и возраста пациенток. Увеличение SCE и SCOUT с возрастом пациенток было отмечено для всех исследуемых патологий ( $p < 0,001$ ), хотя количество SCE во всех группах было выше, чем количество SCOUT. При сравнении групп пациенток с различными патологиями было выявлено, что количество SCE и SCOUT в группе пациенток с HGSC было значительно выше, чем в остальных группах ( $p < 0,001$ ).

Исследования, посвященным особенностям SCOUT проводились и ранее, но сравнения SCE и SCOUT с учетом возраста и заболевания пациенток не изучалось. Так, C. Quick et al. отметили увеличение SCOUT у пациенток с серозными карциномами, однако, авторы не смогли отнести данный показатель к независимым факторам риска после применения поправки на возраст пациенток [326].

В нашем исследовании корреляция между возрастом и количеством для SCE была сильнее, чем для SCOUT (коэффициент Пирсона 0,86 и 0,35 соответственно), хотя статистически значимыми полученные результаты были в обоих случаях. Эти данные позволяют рассматривать возраст пациенток в качестве независимого фактора риска для развития HGSC, хотя и менее существенны, чем мутации в генах BRCA1/2 [312, 338].

Отличия наших данных от полученных в предыдущих исследованиях могут быть объяснены прицельным взятием фимбриального отдела маточной трубы, в котором, как известно, предшественники HGSC возникают в 5 раз чаще, чем в других отделах [398].

Также на основании полученных результатов нами была построена прогностическая модель ( $HGSC = 0,22 * SCE + 0,055 * SCOUT - 0,068 * BO3 + 0,72$ ), применение которой позволило выявить, что вероятность развития HGSC увеличивалась с ростом количества SCE и SCOUT. При этом, чем в более молодом возрасте отмечался рост количества SCE и SCOUT, тем в большей степени это свидетельствовало о наличии HGSC.

Однако, вследствие ошибочных результатов, полученных у самых молодых женщин в группе HGSC (40-46 лет) мы предлагаем установить нижний возрастной порог для применения данной формулы равный 47 годам.

Кроме того, мы сравнили SCE и SCOUT в качестве прогностического критерия. Было выявлено, что можно выделить минимальное количество SCE, встречающееся при HGSC, в то время как для других патологий это самое большое значение SCE. Для SCOUT такое минимальное значение выделить невозможно, что показано на **рис. 28 В и Г**.

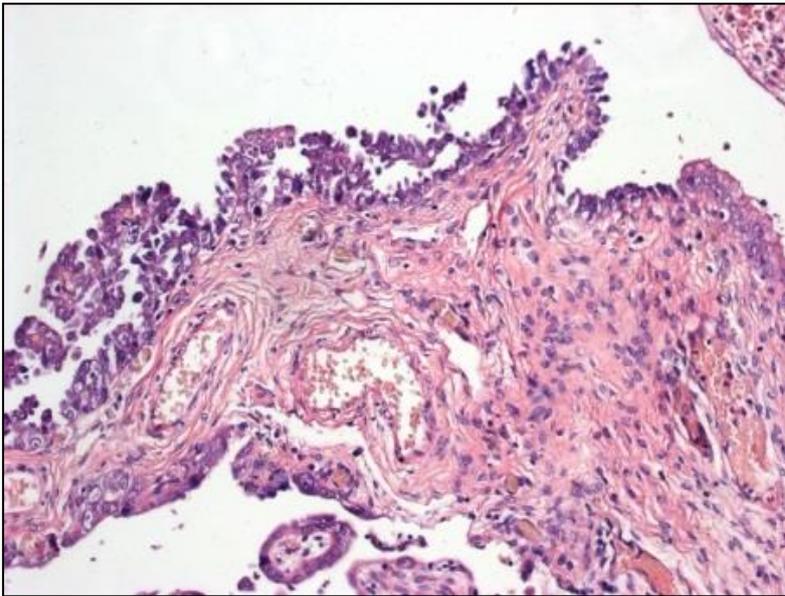
Таким образом, нами выявлено, что количество SCE и SCOUT увеличивается с возрастом вне зависимости от патологии репродуктивной системы, количество SCE выше, чем количество SCOUT вне зависимости от патологии репродуктивной системы и от возраста пациенток, количество SCE и SCOUT в группе пациенток с HGSC значительно выше, чем в остальных группах. Кроме того, в качестве изолированного маркера SCE обладает большей эффективностью, чем SCOUT, однако, наибольшей эффективностью обладает совместная оценка SCE, SCOUT и возраста пациенток, что и было продемонстрировано в настоящем исследовании с помощью предложенной прогностической формулы. Эта формула обладает высокой чувствительностью и специфичностью и может быть эффективно

использована для прогностической характеристики состояния яичников в случае изолированной (оппортунистической) сальпингэктомии.

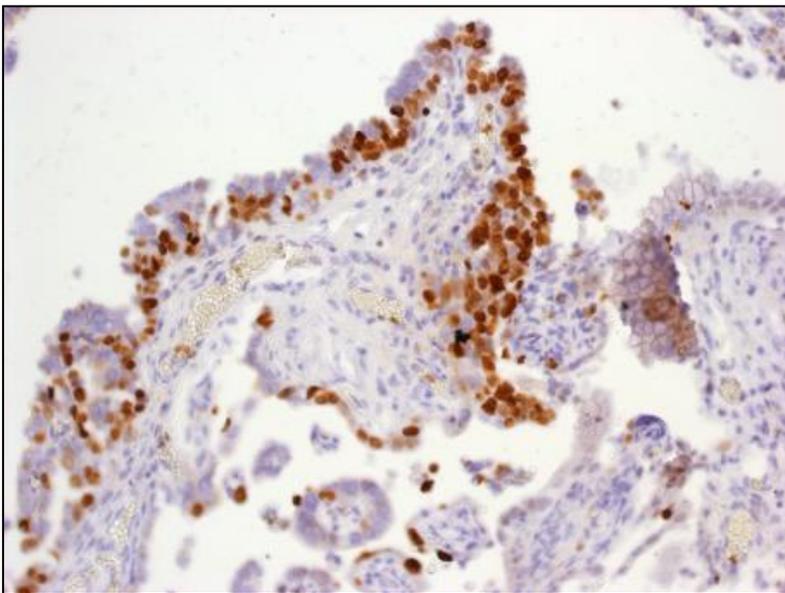
Однако, несмотря на прогностическую ценность интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы без фенотипических изменений, наличие интраэпителиальных поражений с фенотипическими изменениями требует более активных клинических действий. Более того, верификация STIC в маточной трубе при диагностированной HGSC в яичнике свидетельствует о вовлечении в патологический процесс маточной трубы даже без признаков инвазивного процесса в ней, и такая опухоль относится к более продвинутой стадии по FIGO. Это диктует необходимость точной диагностики данных изменений слизистой оболочки маточной трубы даже при гистерэктомии матки с придатками, так как влияет на стадирование процесса и тактику постоперационного ведения пациентки.

### **3.3.2.2. Интраэпителиальные поражения слизистой оболочки маточной трубы с фенотипическими изменениями эпителиоцитов)**

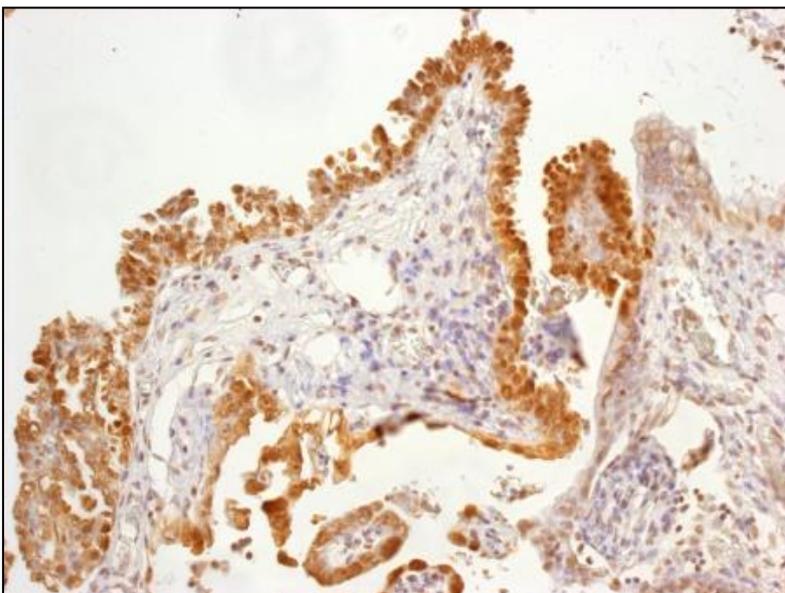
Впервые интраэпителиальные поражения слизистой оболочки маточной трубы были описаны еще до предположения об их морфогенетической связи с HGSC, высказанного после полного исследования маточных труб, удаленных с профилактической целью у носительниц BRCA-мутаций [171]. Для диагностики данных поражений R. Vang был предложен двухэтапный алгоритм [434], который мы использовали в нашем исследовании. Согласно данному алгоритму, поражения, соответствующие критериям STIC, были выявлены в 14,7% случаев, подозрительные в отношении данного поражения – в 25,7%, лишенные признаков STIC – в 59,6% случаев. После проведения ИГХ исследования STIC была диагностирована в 10% случаев (**рис. 33-35**), серозное трубное интраэпителиальное поражение (англ. – serous tubal intraepithelial lesion (STIL) – в 13,3% (**рис. 36-38**), p53-signature – в 11,7% случаев (**рис. 39-41**), неизмененный эпителий слизистой оболочки маточной трубы или его реактивные изменения – в 65% случаев.



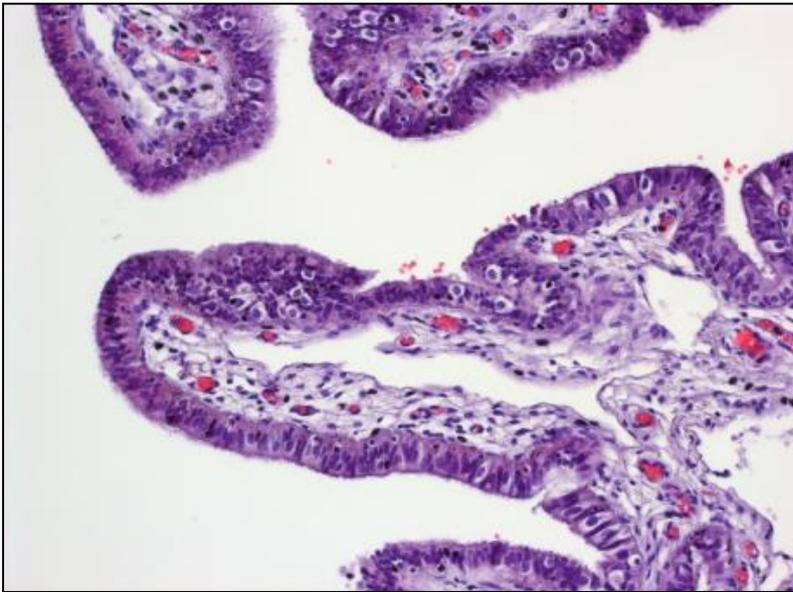
**Рисунок 33.** STIC в маточной трубе пациентки с серозной карциномой яичника высокой степени злокачественности, х 200. Окраска гематоксилином и эозином



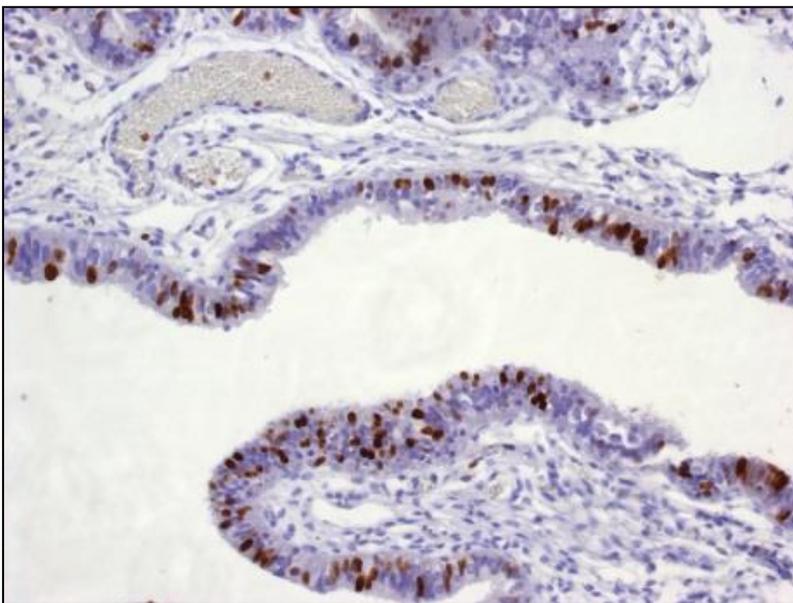
**Рисунок 34.** STIC в маточной трубе пациентки с серозной карциномой яичника высокой степени злокачественности, х 200. Экспрессия Ki-67 в атипических клетках >10%



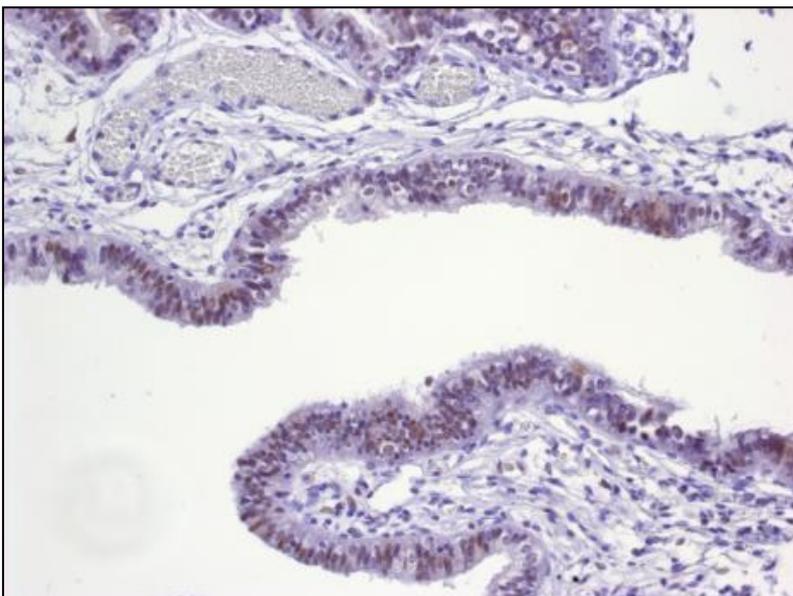
**Рисунок 35.** STIC в маточной трубе пациентки с серозной карциномой яичника высокой степени злокачественности, х 200. Выраженная экспрессия p53 в атипических клетках >75%



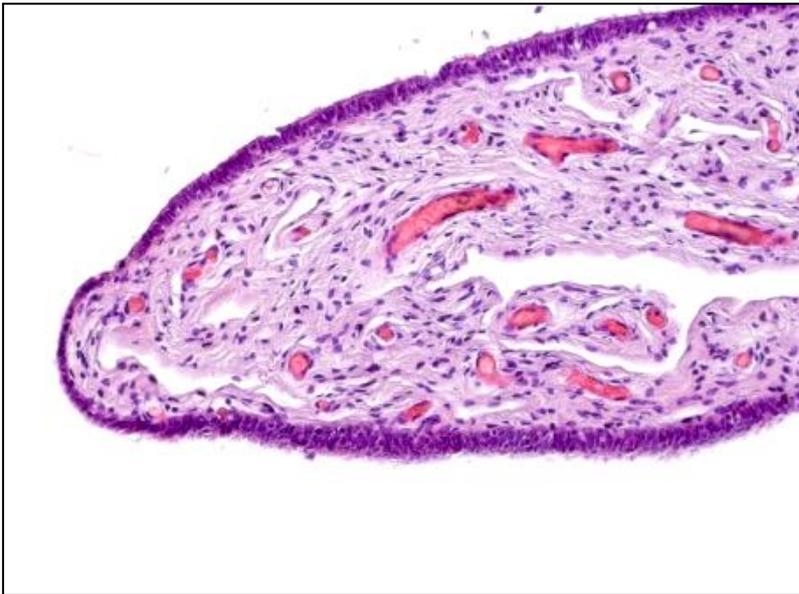
**Рисунок 36.** STIL в маточной трубе пациентки с серозной карциномой яичника высокой степени злокачественности, х 200. Окраска гематоксилином и эозином



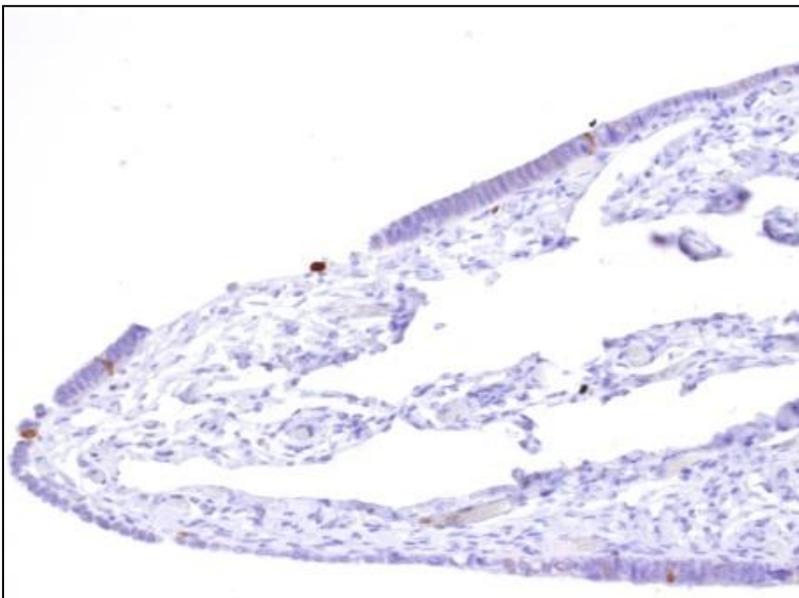
**Рисунок 37.** STIL в маточной трубе пациентки с серозной карциномой яичника высокой степени злокачественности, х 200. Экспрессия Ki-67 клетках с признаками атипии >10%



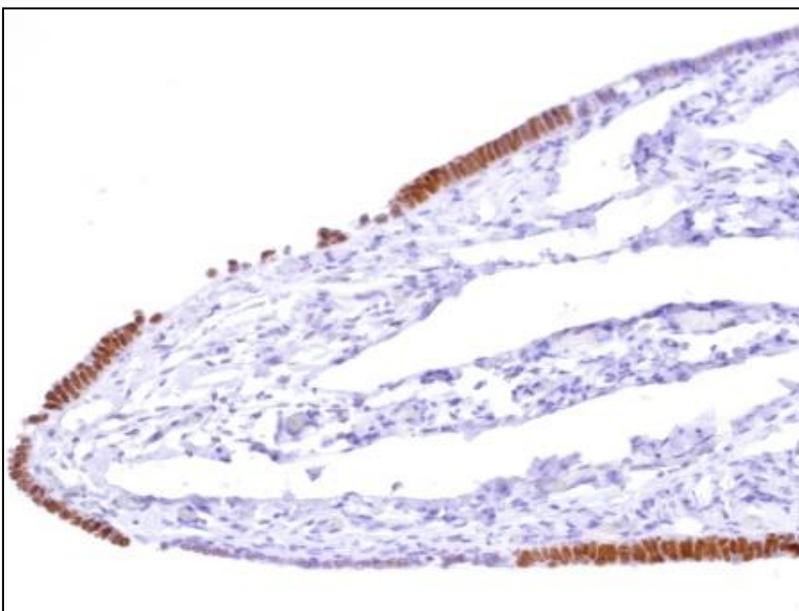
**Рисунок 38.** STIL в маточной трубе пациентки с серозной карциномой яичника высокой степени злокачественности, х 200. Слабовыраженная экспрессия p53 в клетках с признаками атипии.



**Рисунок 39.** p53-signature в маточной трубе пациентки с серозной карциномой яичника высокой степени злокачественности, х 200. Окраска гематоксилином и эозином



**Рисунок 40.** p53-signature маточной трубе пациентки с серозной карциномой яичника высокой степени злокачественности, х 200, экспрессия Ki-67 в единичных клетках (<10%).



**Рисунок 41.** p53-signature маточной трубе пациентки с серозной карциномой яичника высокой степени злокачественности, х 200. Выраженная экспрессия p53 в непрерывно расположенных секреторных клетках.

При применении морфологического метода соответствующие критериям STIC поражения выявлены только при HGSC, подозрительные в отношении STIC поражения выявлены при HGSC, серозных пограничных опухолях, серозных цистаденомах, а также при карциномах яичника, относящихся к другим гистотипам (рис.42).

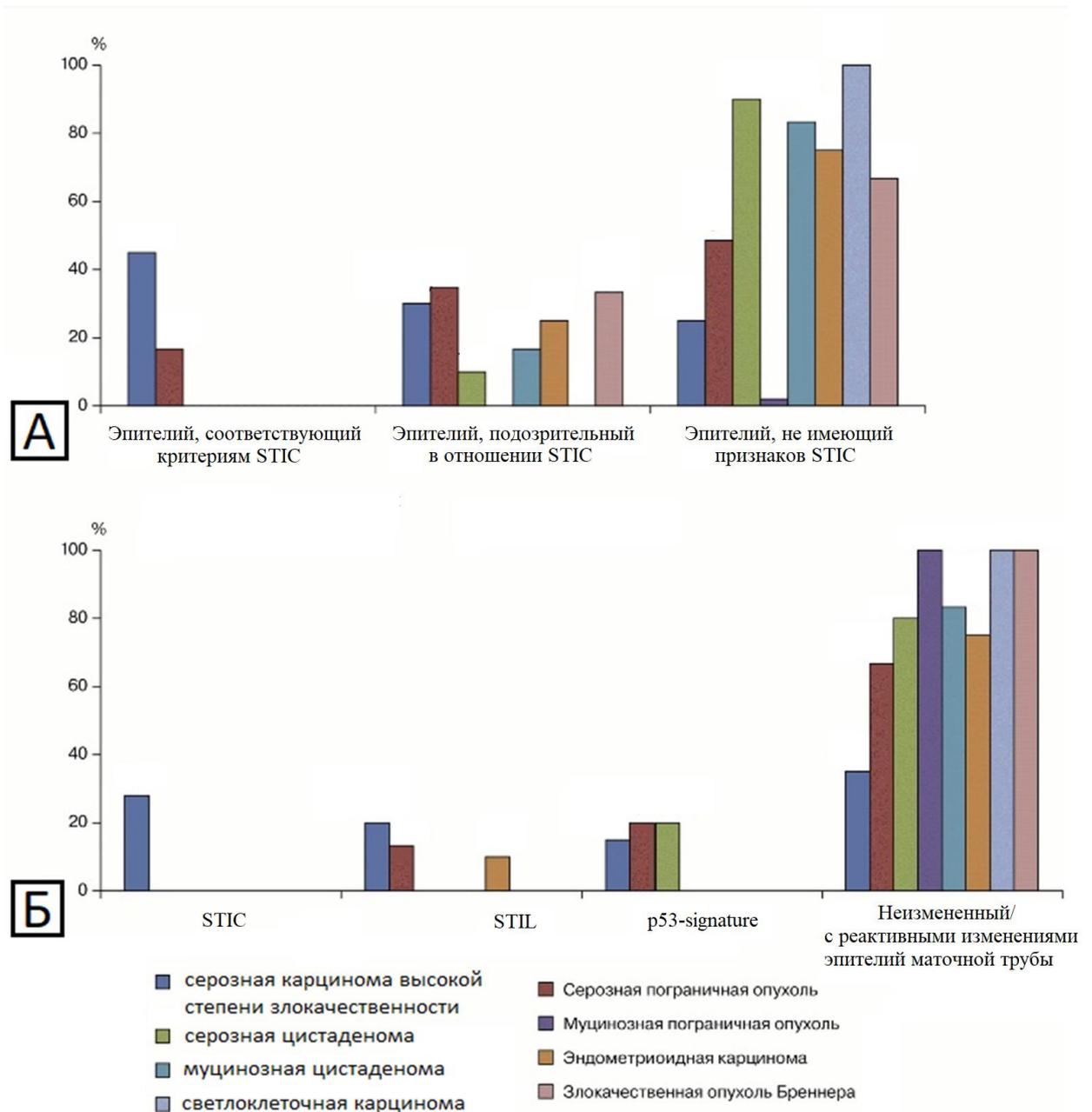
После применения алгоритма R. Vang STIC были выявлены только при HGSC, более того, все трубные интраэпителиальные поражения, выделяемые в соответствии с данным алгоритмом, достоверно чаще выявлялись при серозных, чем при других эпителиальных опухолях ( $p < 0,05$ ).

Среди карцином яичника также наблюдалось различное распределение трубных интраэпителиальных поражений: STIC и p53-signature были выявлены только при HGSC, STIL – еще и при эндометриоидных карциномах, различия также были достоверно значимыми ( $p < 0,05$ ). Фенотипически неизменные интраэпителиальные поражения выявлялись во всех исследуемых маточных трубах (за исключением p53-signature), однако их число было достоверно большим при HGSC по сравнению с другими серозными опухолями, а также с внеовариальной патологией и карциномами яичника, ( $p < 0,05$ ).

Следует отметить, что STIC были выявлены только при HGSC, а частота их верификации (32%) согласовалась с ранее полученными данными, в частности, в исследовании Н.В. Даниловой и др. [70].

Более высокий процент выявляемости STIC в нашем исследовании по сравнению с некоторыми данными зарубежных наблюдений можно объяснить большей долей случаев, включающих исследование фимбриального отдела маточных труб [204, 289].

С другой стороны, небольшое число наблюдений и включение в исследование только спорадических случаев HGSC могли стать причиной более низких показателей частоты диагностирования STIC, чем были показаны другими исследователями [117, 284].



**Рисунок 42.** Распространенность интраэпителиальных поражений маточных труб при различных эпителиальных опухолях яичника при применении только морфологического метода – световая микроскопия препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином (А) и при дополнительном использовании иммуногистохимических маркеров p53 и Ki-67 (Б)

Также к более низким показателям встречаемости STIC могло привести обязательное применение ИГХ-исследования, которое не применялось в исследованиях С. Przybycin и D. Maeda. Было показано, что ИГХ позволяет дифференцировать реактивные изменения эпителия и истинную дисплазию, снижая, таким образом, процент выявленных STIC. Различия в частоте встречаемости STIC в нашем исследовании были достоверно значимы как среди серозных опухолей различной степени злокачественности ( $p < 0,05$ ), так и среди карцином яичника разных гистотипов ( $p < 0,05$ ).

Что касается других интраэпителиальных поражений маточной трубы, исследованных в нашей работе – STIL и p53-signature, то и в отношении этих поражений была отмечена более высокая частота возникновения среди серозных опухолей. В литературе встречаются многочисленные термины, описывающие данную патологию – пролиферирующая p53-signature (англ. – proliferative p53-signature), дисплазия маточной трубы, атипичная гиперплазия маточной трубы, внутриэпителиальная атипия/неоплазия маточной трубы [114, 146, 274, 407, 425]. При этом, ни один из этих терминов не отражает сути данного патологического процесса и не может быть признан удачным, а лишь вносит разногласия в понимание места данного поражения в диагностическом алгоритме. В нашей работе мы остановились на термине STIL как наиболее удачном с нашей точки зрения, позволяющем соотнести данное поражение с подобными промежуточными патологическими изменениями в других органах, например, в шейке матки – интраэпителиальное плоскоклеточное поражение (англ. squamous intraepithelial lesion, SIL).

Таким образом, полученные результаты подтверждают, что для более точной диагностики интраэпителиальных поражений маточной трубы необходимо применение ИГХ исследования. В то же время, возможная патогенетическая связь между гиперпластическими и интраэпителиальными поражениями слизистой оболочки маточной трубы и HGSC дает основание предположить, что ранняя/малоинвазивная диагностика таких поражений

может стать одним из методов скрининга и ранней диагностики HGSC. Одним из таких методов диагностики является цитологическое исследование мазков, взятых из фимбриального отдела маточной трубы, которое было нами проведено для описания цитологической картины при гиперпластических и интраэпителиальных поражениях слизистой оболочки маточной трубы и разработке алгоритма их цитологической диагностики.

Все мазки имели достаточно клеток для оценки. Малоклеточные мазки были выявлены в 53% случаях, средnekлеточные – в 30%, гиперклеточные – в 17%. Среди мазков при внеовариальной патологии, серозных доброкачественных и пограничных опухолях яичника чаще всего регистрировались малоклеточные мазки (в 70%, 50% и 43% случаев соответственно), при HGSC все типы мазков выявлялись с одинаковой частотой (по 33%). Статистически значимых различий в типе мазка между группами исследования не выявлено ( $p > 0.05$ ).

Фон мазков был чистым в 56% мазков, с наличием аморфного бесструктурного вещества – в 36%, с наличием бесструктурного вещества и примесью эритроцитов – в 8%. В 19% мазков выявлялись плоские клетки и/или «чешуйки» (скорее всего, были привнесены во время манипуляции).

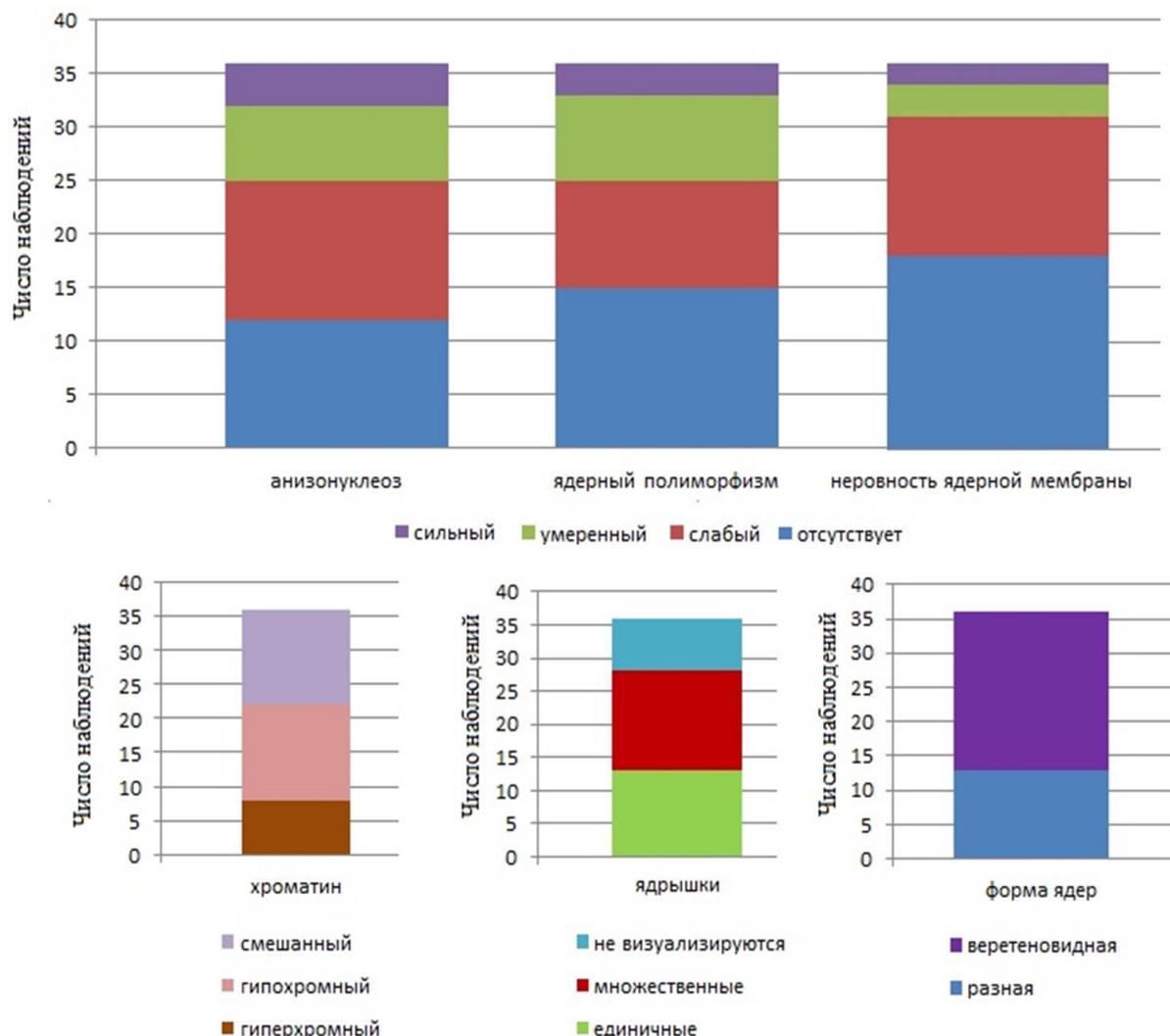
Общая характеристика клеток, выявленных в мазках, представлена на **рис. 43**. Были выявлены такие цитологические характеристики клеток как организация клеток в структуры подобным пчелиным сотам и пласты клеток (**рис. 44-45**), вакуолизация цитоплазмы клеток, увеличение размеров ядра при сохранении его нормальной структуры и гладких контурах, признаки псевдодискариоза клеток. Данные характеристики были отнесены к признакам реактивных изменений.

Кроме того, в ряде случаев были отмечены неровные края клеток, их «уродливость», скученность клеток и «наползание» их друг на друга, наличие крупных гиперхромных «голых» ядер (**рис. 46**). Данные характеристики были отнесены к истинной атипии и мазки с такими признаками были исследованы иммуноцитохимически. Анизонуклеоз преимущественно отсутствовал при

неизменной ткани яичников (в 77%) и был выраженным (умеренным и сильным) – при пограничных опухолях и HGSC (в 57% и 83% соответственно). Ядерный полиморфизм преимущественно отсутствовал при неизменной ткани яичников, был умеренным и сильным при HGSC (в 100%).

Не отмечалось неровностей контуров ядра при неизменной ткани яичников (в 85%), в других группах исследования данный показатель был вариабельным.

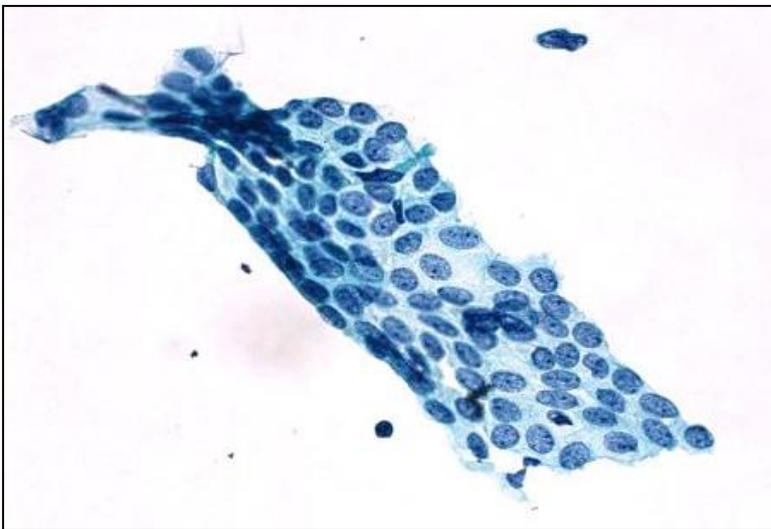
Хроматин был гипохромным преимущественно при неизменной ткани яичников (в 77%), гиперхромным – в 40% при доброкачественных опухолях, в 50% – при HGSC, в 14% – при пограничных опухолях, смешанным – в 57% пограничных опухолей и в 50% HGSC.



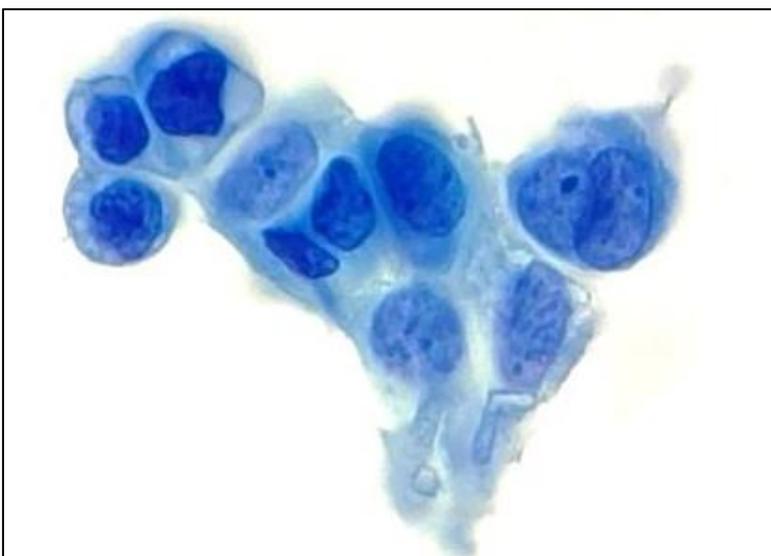
**Рисунок 43.** Характеристика ядерно-цитоплазматических особенностей клеток эпителия маточной трубы



**Рисунок 44.** Комплекс клеток эндосальпинкса, подобный пчелиным сотам, х400. Мазок из фимбриального отдела маточной трубы пациентки с внеовариальной патологией. Окраска по Папаниколау



**Рисунок 45.** Комплекс клеток эндосальпинкса в виде пласта, х400. Мазок из фимбриального отдела маточной трубы пациентки с внеовариальной патологией. Окраска по Папаниколау

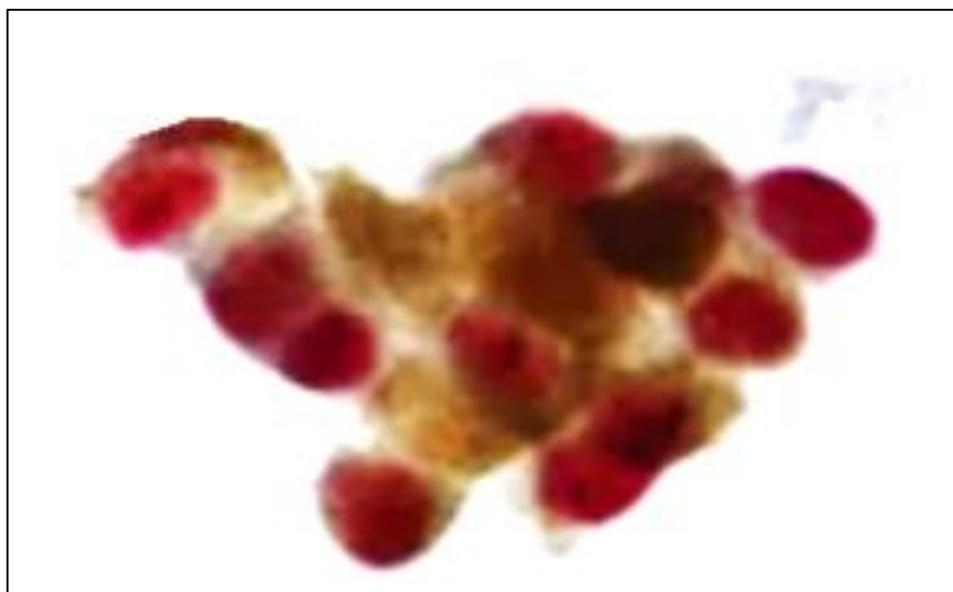


**Рисунок 46.** Комплекс клеток эндосальпинкса с выраженным ядерным полиморфизмом и неровностью контуров ядра, х630. Мазок из фимбриального отдела маточной трубы пациентки с серозной карциномой яичника. Окраска по Папаниколау

Единичные ядрышки (в 54%) или их отсутствие (в 23%) преобладали при неизменной ткани яичников, множественные – при пограничных опухолях, HGSC и доброкачественных опухолях яичника (в 57%, 50% и 50%, соответственно). Форма ядер преимущественно была веретеновидной при неизменной ткани яичников (в 85%) и разной – при HGSC (в 83%)

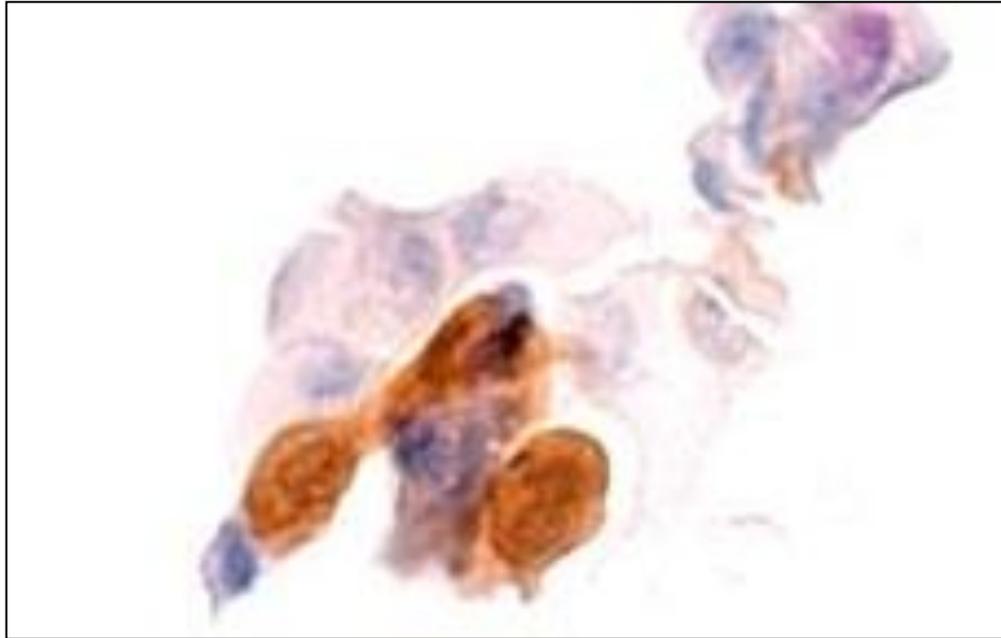
В отличие от доброкачественных комплексов эпителиоцитов, неопластические клетки были организованы в трехмерные кластеры, а ядра злокачественных клеток имели ярко выраженные ядрышки.

Следует особо отметить, что атипические клетки, организованные в комплексы, были выявлены только в маточных трубах пациенток с HGSC. Для дополнительной верификации последних возможно использование одновременного окрашивания p16 и Ki-67 коммерческим набором CINtec (Roch) (**рис. 47**), поскольку p16, как было показано, также является чувствительным маркером для STIC при гистологическом исследовании [393].



**Рисунок 47.** Иммуноцитохимическое исследование мазка, взятого из маточной трубы пациентки с серозной карциномой яичника высокой степени злокачественности: экспрессия в эпителиоцитах «двойной метки»: p16 – коричневое окрашивание, ki-67 – красное окрашивание, х 630

При иммуноцитохимической оценке мазков с признаками истинной атипии были получены следующие результаты: в 80% единичных атипических клеток или их комплексов отмечалась положительная экспрессия p16, в 50% – положительная экспрессия p53 (**рис.48**), в 40% – положительная экспрессия Ki-67.



**Рисунок 48.** Иммуноцитохимическое исследование мазка, взятого из маточной трубы пациентки с серозной карциномой яичника высокой степени злокачественности: экспрессия p53 в ядрах эпителиоцитах, х 630

В литературе описано, что при формировании STIC происходит нарушение экспрессии компонентов базальной мембраны, приводящие к отделению пораженного участка слизистой оболочки фимбрий или эндосальпинкса с последующей возможной имплантацией его на поверхность яичника, брюшины и даже на соседний участок фимбриального отдела маточной трубы [406, 409]. Следует отметить, что маточные трубы с изолированной STIC без инвазивной опухоли и без HGSC встречаются не более, чем в 4% наблюдений при изучении маточных труб, удаленных по поводу внеовариальной патологии, поэтому на этапе разработки метода были исследованы мазки, взятые из маточных труб с наличием STIC вне зависимости от сопутствующей патологии для определения диагностических

возможностей метода. Следует отметить, что наибольшее отличие клеточного состава мазков пациенток с незлокачественными (серозными доброкачественными и пограничными опухолями) касалось характеристик ядра.

Так, ядерный полиморфизм и неровность контуров ядра наблюдались именно в мазках пациенток с HGSC (в 100% случаев), мазки с признаками анизонуклеоза в 80% также были получены от женщин с HGSC.

Такие признаки, как гипехромия и множественные ядрышки были выявлены в мазках не только пациенток с HGSC, но и в мазках пациенток с другими опухолями яичника (в основном, доброкачественными).

Поэтому, именно полиморфизм ядер, изменения контура ядерной мембраны и анизоцитоз можно назвать наиболее ценными критериями атипичных клеток.

Кроме традиционных характеристик, применяемых при оценке цитологических мазков и использованных в нашем исследовании, мы также верифицировали псаммомные тельца в 20% мазков пациенток с серозными пограничными опухолями яичника.

Что касается дополнительных методов исследования, то, несомненно, точной верификации атипичных клеток способствует применение иммуноцитохимического метода.

В нашем исследовании применялись маркеры p16, p53 и Ki-67, которые, как известно, проявляют позитивную экспрессию при HGSC и STIC. Во всех мазках пациенток с HGSC была выявлена позитивная экспрессия данных маркеров в атипичных клетках. Следует отметить, что именно одновременное исследование экспрессии p16 и Ki-67 иммуноцитохимическим методом является наиболее перспективным, поскольку набор CINtec является таргетным для интраэпителиальных поражений шейки матки и следует учитывать, что маркер p16 может экспрессироваться в так называемых стареющих клетках (англ. senescent cells) [128, 349], а Ki-67 – в пролиферирующем эпителии маточной трубы [247, 248]. Данный метод может

быть в дальнейшем использован не только для иммуноцитохимической, но и для иммуногистохимической диагностики, поскольку в настоящее время приходится готовить два гистологических среза, а сложная и тонкая гистоархитектоника фимбриального отдела маточной трубы способствует утрате клеток при приготовлении нового среза и снижению качества диагностики [164].

В зарубежной литературе уже появились первые данные о возможности использования метода цитологической диагностики для скрининга рака яичников, однако предложенный метод не включает иммуноцитохимическую диагностику, в то время как данное дополнительное исследование помогает более точно верифицировать природу цитологических изменений.

Таким образом, мы определили морфологические, цитологические, иммуногисто – и цитохимические характеристики интраэпителиальных изменений маточной трубы.

Наиболее часто данные изменения встречаются при серозных опухолях. При этом, ГИЭ чаще всего наблюдается при серозных пограничных опухолях, а STIC – при HGSC, что позволяет предположить патогенетическую связь между ГИЭ и пограничными опухолями, и между STIC и HGSC, что подтверждает принятую в настоящее время концепцию морфогенеза HGSC [254].

В процессе изучения гиперпластических и интраэпителиальных поражений маточной трубы стало очевидным, что точная диагностика данных патологических изменений влияет на тактику ведения пациенток и прогноз их заболевания. Наиболее уязвимым с этой точки зрения является алгоритм диагностики STIC. Нами был разработан алгоритм усовершенствованной диагностики данного поражения, после чего мы провели оценку воспроизводимости диагнозов всех исследуемых патологических изменений слизистой оболочки маточной трубы, результаты которой вынесены в отдельный раздел (3.4).

### 3.3.2.2.1. Алгоритм диагностики интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы с фенотипическими изменениями (STIC)

Известны попытки усовершенствовать алгоритм диагностики интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы с фенотипическими изменениями с помощью дополнительных ИГХ-маркеров [378, 434]. Так, наиболее широко распространенным алгоритмом диагностики STIC является алгоритм R. Vang, в соответствии с которым наряду с патоморфологическим исследованием срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, рекомендуется использовать алгоритм с иммуногистохимическим определением экспрессии p53 и Ki-67 [434].

При этом, сами исследователи указывают, что данный алгоритм не лишен недостатков. Согласно их данным около 95% HGSC имеют мутации в гене *TP53*, однако не все они приводят к накоплению «мутантного» белка p53. Таким образом, использование ИГХ-исследования экспрессии p53 как способа верификации мутации в гене *TP53* не всегда эффективно.

Известно, что мутации в гене *TP53*, в основном, являются миссенс-мутациями. Вторые по частоте – нонсенс-мутации. Реже встречаются фреймшифт-мутации, сплайс-мутации и мутации, связанные с вставкой в рамку считывания. Миссенс-мутации всегда сопровождаются высокой экспрессией p53 [118, 228]. При нонсенс-мутациях выраженная экспрессия p53 наблюдается в 36% опухолей, умеренная и слабовыраженная – в 9%, отсутствие экспрессии отмечается в 55% [239, 293, 418].

Другие мутации, не относящиеся к миссенс-мутациям, в большинстве случаев также сопровождаются отсутствием экспрессии p53.

Показатели позитивно окрашенных ядер клеток при оценке экспрессии p53 остаются предметом дискуссии. Разные исследователи предлагают использовать в качестве пороговой отметки значения от 30% до 75% [163, 228, 343, 401].

Кроме того, в ряде наблюдений отмечены, так называемые, промежуточные показатели экспрессии p53, которые ассоциированы с «немутантным» геном *TP53*, но могут встречаться и при нонсенс-мутациях в нем [118].

В связи с этим, уровень экспрессии белка p53 нельзя считать универсальным маркером, поскольку оценка его показателей имеет невысокий уровень воспроизводимости [378].

Исходя из вышесказанного, совершенствованию диагностики STIC могло бы способствовать формирование более точной диагностической панели, что позволило бы избежать спорных случаев в диагностике STIC.

Нами были выбраны для изучения в качестве дополнительных маркеров онкопротеины p16, *stathmin1* и *laminin-gamma1*, которые могли бы служить вспомогательными в тех случаях, когда мутация в гене *TP53* не приводит к накоплению мутантного белка p53, и оценка экспрессии p53 затруднительна.

Для данного фрагмента работы нами были отобраны только маточные трубы от пациенток с HGSC, так как в разделе 3.3 было показано, что в подавляющем большинстве случаев STIC диагностируют именно в данной группе пациенток.

При наличии хотя бы 3–4 критериев STIC по алгоритму R. Vang, изменение слизистой оболочки маточной трубы рассматривали как «подозрительное, в отношении STIC», и данный участок маточной трубы подвергали ИГХ-исследованию.

В соответствии с иммунофенотипом все STIC разделяли на p53-позитивные (умеренное и сильное коричневое окрашивание ядер >75% атипичных клеток) и p53-негативные (отсутствие экспрессии p53).

Для p53 негативных STIC в качестве положительного «внутреннего» контроля использовали слабую позитивную экспрессию p53 вне эпителиального компонента или в эпителиальных клетках слизистой оболочки маточной трубы без признаков атипии.

Экспрессию Ki-67 считали высокой при положительном ядерном коричневом окрашивании >10% атипичных клеток [434].

На основании примененного алгоритма R. Vang STIC диагностирована нами в 40 маточных трубах (32%), при этом в 31 слизистой оболочке маточной трубы (77%) была выявлена p53-позитивная STIC, в 9 (23%) – p53-негативная (23%).

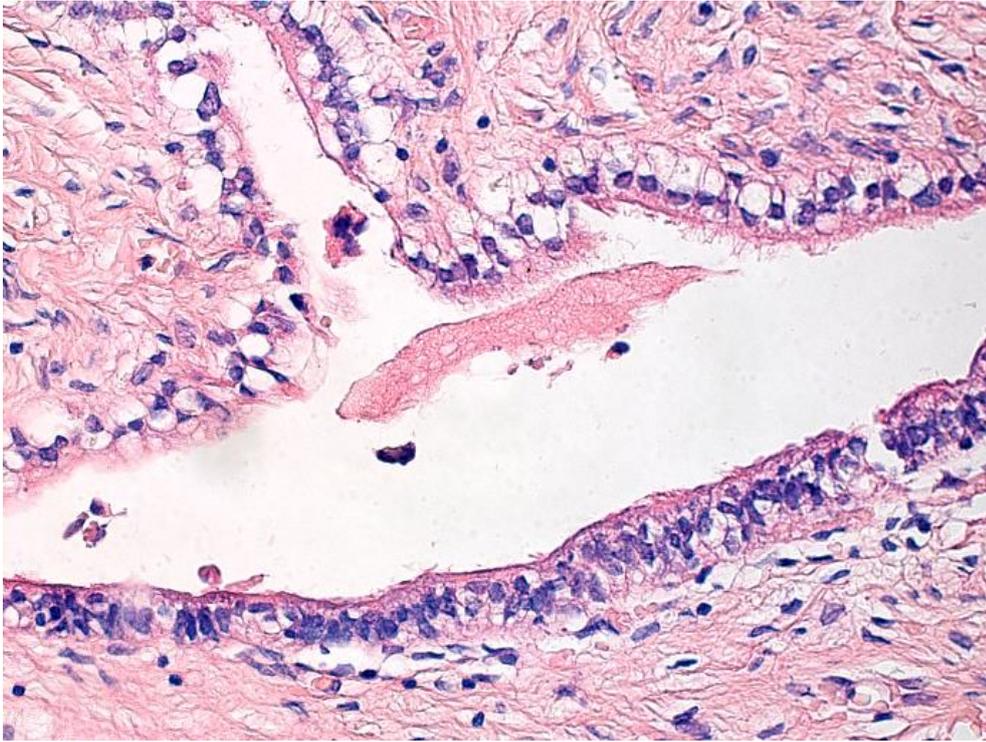
Число участков, соответствующих STIC, было разным: в 10 маточных трубах был выявлен только один участок (шесть p53 позитивных, четыре p53 негативных), в пяти маточных трубах – два участка (в четырех – p53-позитивные, в одной – p53-негативный), и 25 маточных труб содержали более двух участков (15 – p53-позитивные и 10 – p53-негативные).

В каждой из исследованных маточных труб имелась, помимо атипических участков, неизменная слизистая оболочка, в которой содержались как секреторные, так и реснитчатые клетки.

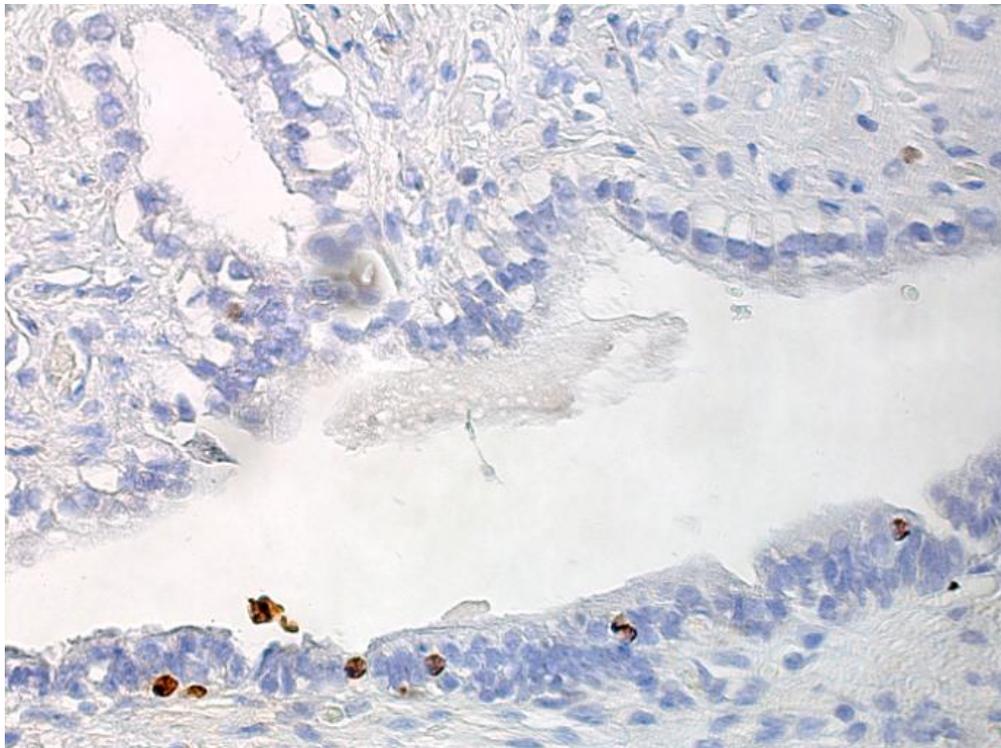
На первом этапе нами была исследована экспрессия маркеров в неизменном эпителии слизистой оболочки маточной трубы и участках STIC.

В морфологически неизменном эпителии слизистой оболочки маточной трубы (**рис. 49**) показатель пролиферации Ki-67 был низким (<5%) (**рис. 50**), в отдельных клетках эпителия наблюдался низкий уровень экспрессии p53 (**рис. 51**), экспрессия p16 была слабой (ядерная и цитоплазматическая локализация) (**рис. 52**), экспрессия stathmin1 и laminin-gamma1 отсутствовала (**рис. 53-54**).

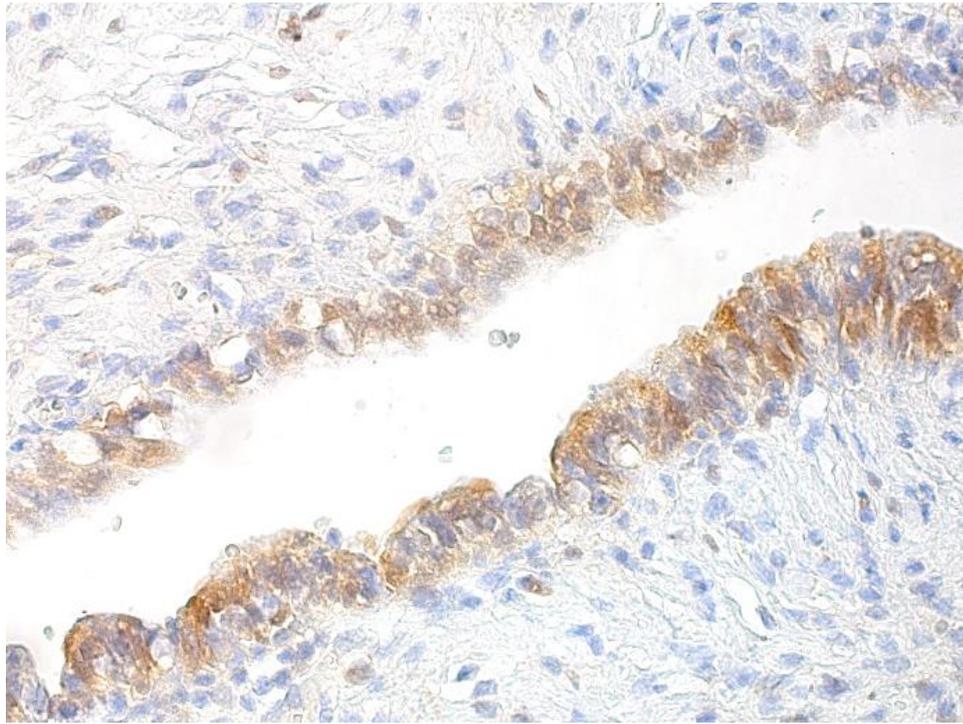
В участках STIC эпителий слизистой оболочки маточной трубы отличался полиморфизмом клеток, атипией ядер и наличием митозов (**рис. 55**). Показатель пролиферации эпителиальных клеток в участках STIC варьировал от 10% до 60% (**рис. 56**), умеренная и/или выраженная экспрессия p53 в >75% атипических клеток отмечалась в 31 (77%) из 40 участков STIC (**рис. 57**). В случаях сочетания STIC и инвазивной HGSC, в опухолевой ткани последней экспрессия p53 была подобна таковой в STIC, как p53-позитивных, так и p53-негативных. Позитивная экспрессия p16 отмечена в клетках эпителия 34 (85%) STIC (**рис. 58**). Из шести p16-негативных STIC четыре были p53-позитивными и две p53-негативными.



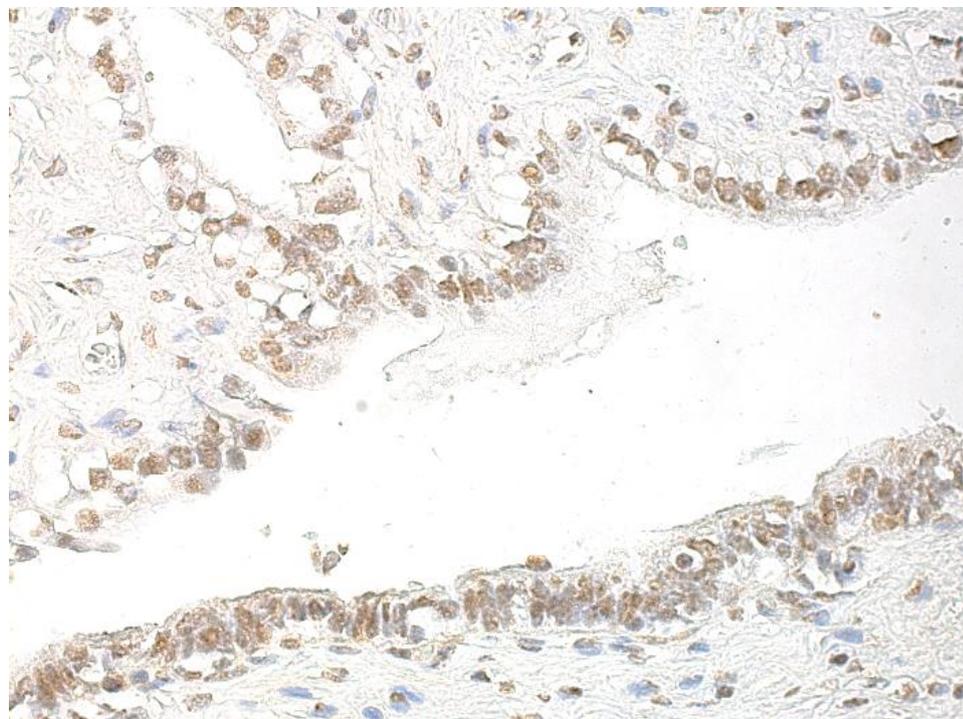
**Рисунок 49.** Неизмененный эпителий слизистой оболочки маточной трубы у пациентки с внеовариальной патологией (лейомиома тела матки), х 200. Окраска гематоксилином и эозином



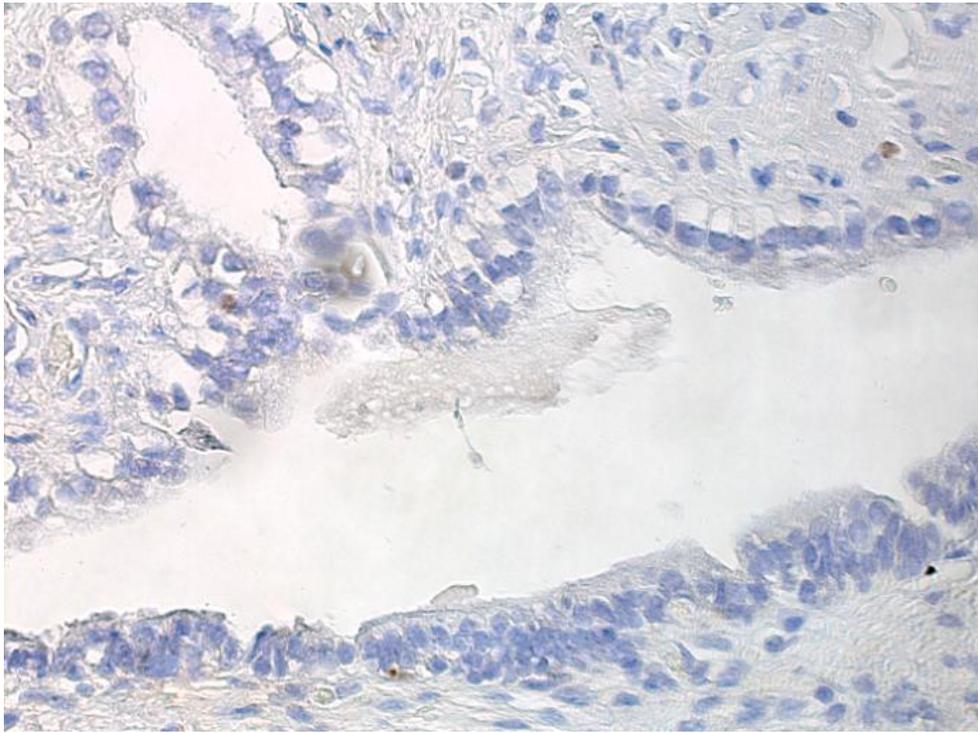
**Рисунок 50.** Неизмененный эпителий слизистой оболочки маточной трубы у пациентки с внеовариальной патологией (лейомиома тела матки), х 200. Экспрессия Ki-67 в единичных эпителиоцитах (<10%)



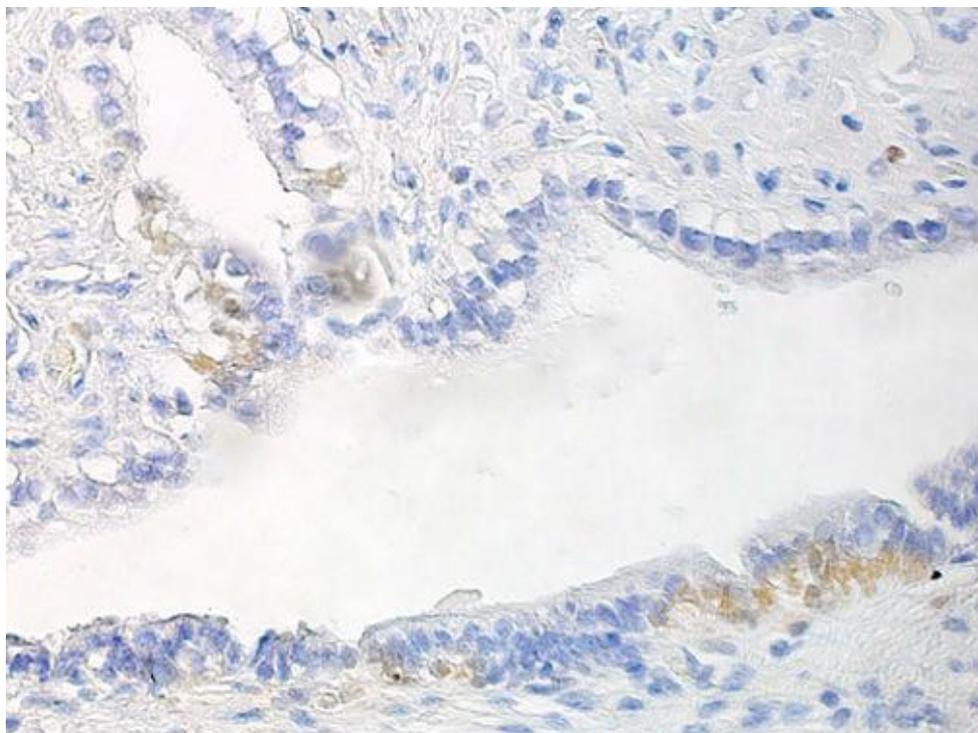
**Рисунок 51.** Неизмененный эпителий слизистой оболочки маточной трубы у пациентки с внеовариальной патологией (лейомиома тела матки), х 200. Слабовыраженная экспрессия p53 во всех эпителиоцитах.



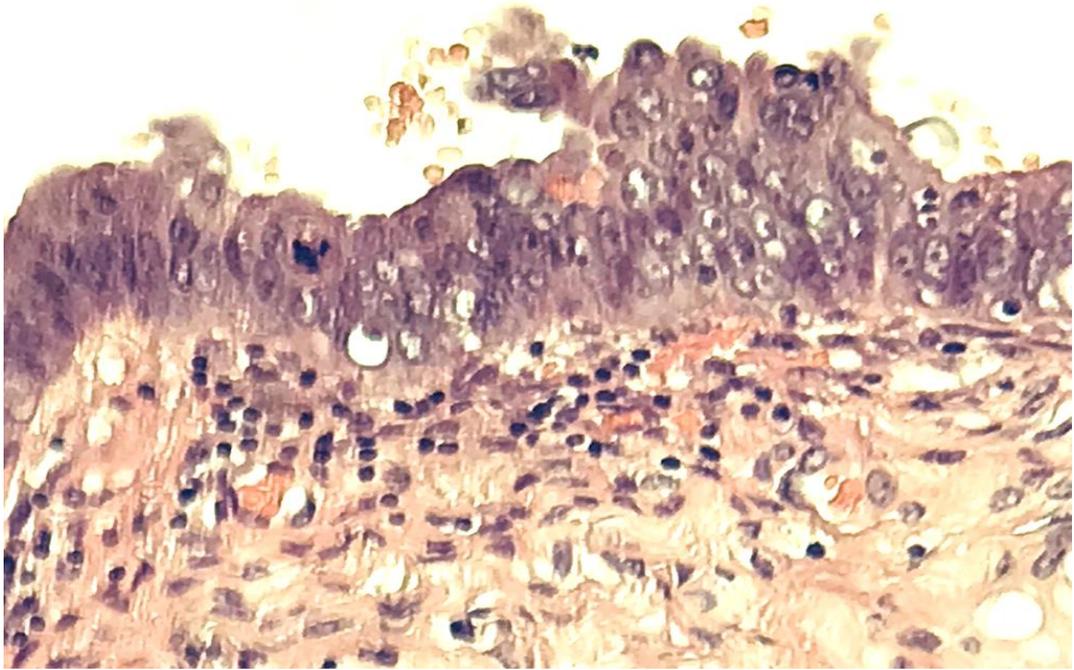
**Рисунок 52.** Неизмененный эпителий слизистой оболочки маточной трубы, у пациентки с внеовариальной патологией (лейомиома тела матки)х 200. Слабовыраженная экспрессия p16 в ядрах и цитоплазме всех эпителиоцитов.



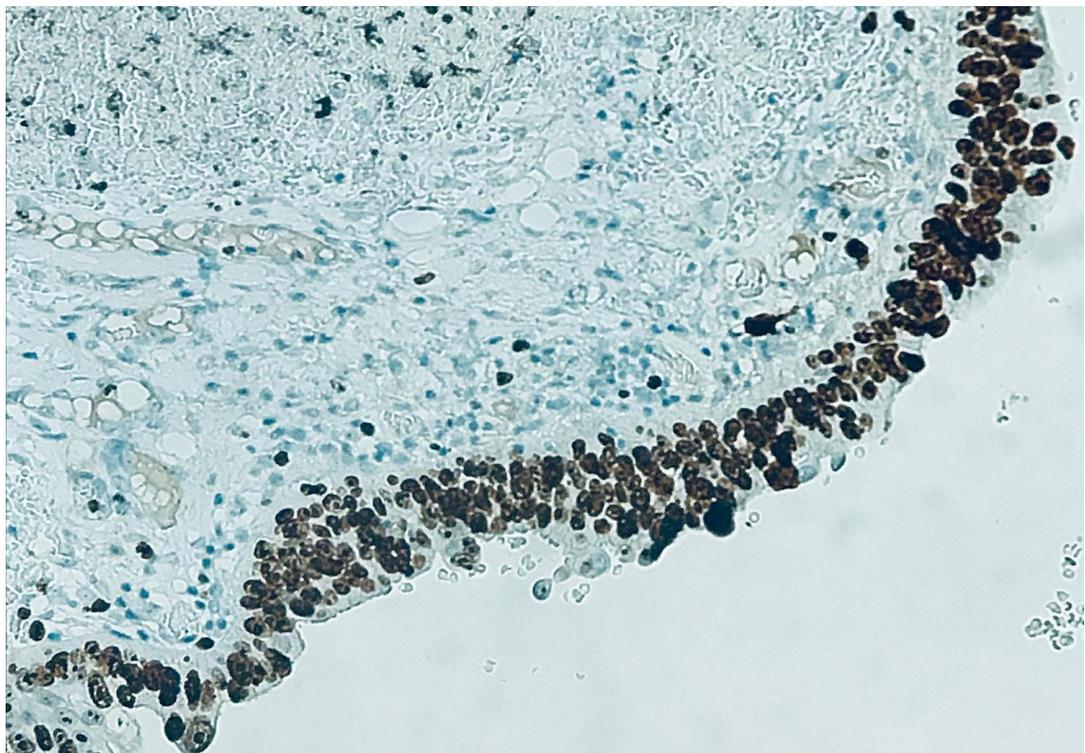
**Рисунок 53.** Неизмененный эпителий слизистой оболочки маточной трубы у пациентки с внеовариальной патологией (лейомиома тела матки), х 200. Отсутствие экспрессии *stathmin1* во всех эпителиоцитах.



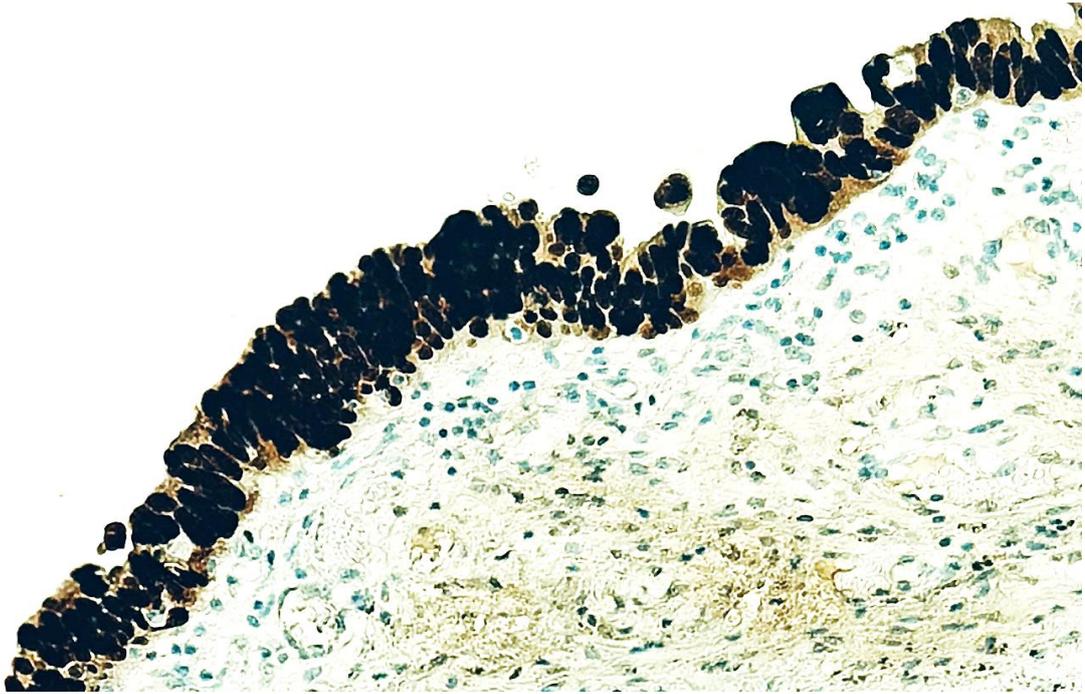
**Рисунок 54.** Неизмененный эпителий слизистой оболочки маточной трубы у пациентки с внеовариальной патологией (лейомиома тела матки), х 200. Экспрессия *laminin-gamma1* в базальных отделах некоторых эпителиоцитов



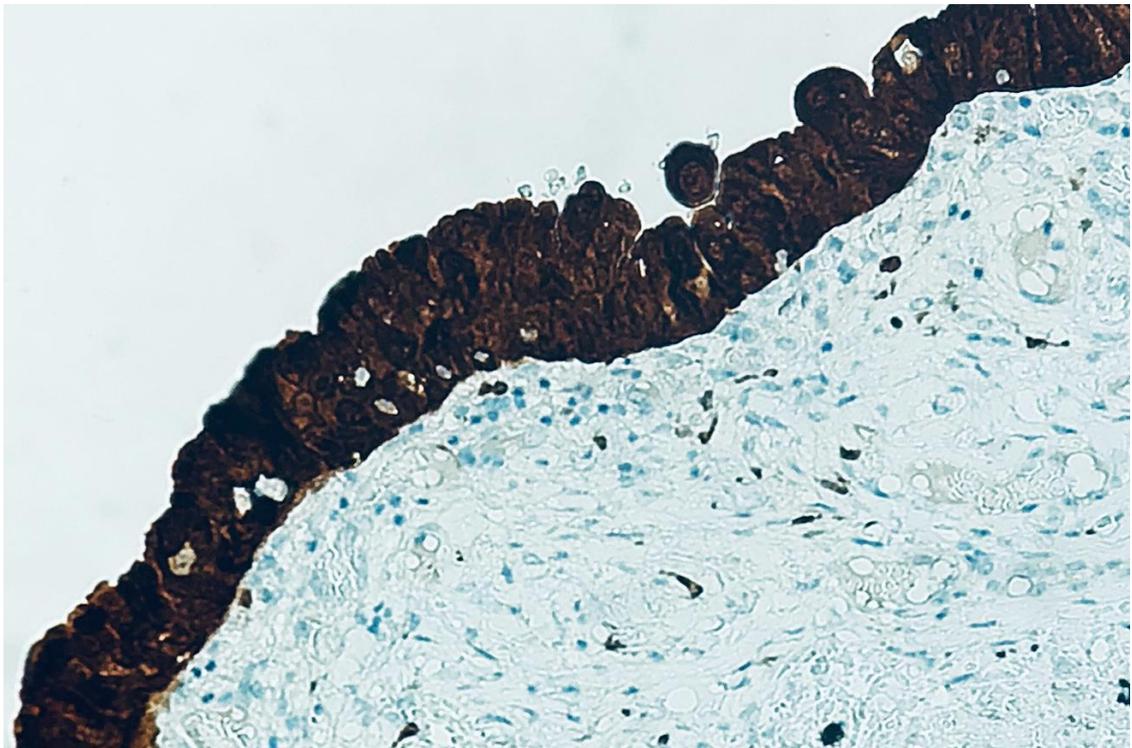
**Рисунок 55.** STIC в маточной трубе у пациентки с серозной карциномой высокой степени злокачественности, х 400. Окраска гематоксилином и эозином



**Рисунок 56 .** STIC в маточной трубе у пациентки с серозной карциномой высокой степени злокачественности, экспрессия ki-67 во всех клетках атипического эпителия, х 400.



**Рисунок 57.** STIC в маточной трубе у пациентки с серозной карциномой высокой степени злокачественности, выраженная ядерная экспрессия p53 во всех клетках атипичического эпителия, х 400.



**Рисунок 58.** STIC в маточной трубе у пациентки с серозной карциномой высокой степени злокачественности, выраженная ядерная и цитоплазматическая экспрессия p16 во всех клетках атипичического эпителия, х 400.

Экспрессия laminin-gamma1 в клетках эпителия была позитивной в 36 (90%) STIC (**рис. 59**), из четырех laminin-gamma1-негативных STIC три были p53-позитивными и одна p53-негативной.

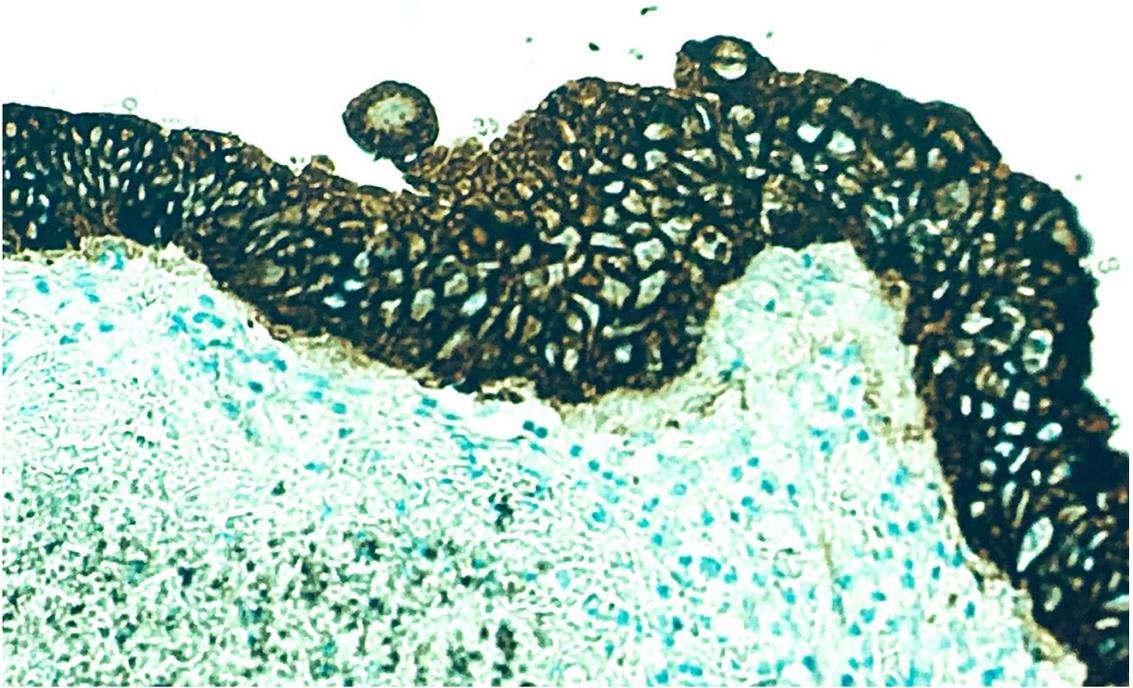
Позитивная экспрессия stathmin1 в клетках эпителия выявлена в 31(77,5%) STIC (**рис. 60**), из девяти stathmin1-негативных STIC семь были p53-позитивными и две p53-негативными.

В девяти из 40 (23%) STIC экспрессия p53 отсутствовала, при этом экспрессия Ki-67 составляла более 10%.

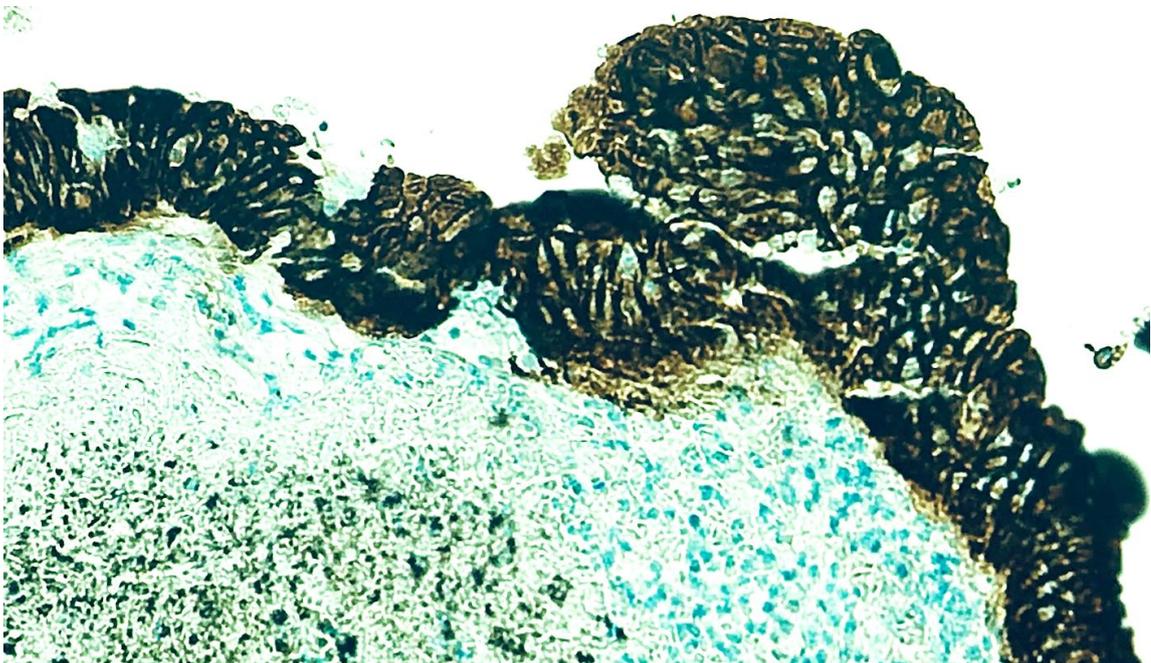
В нашем исследовании в четырех маточных трубах эпителий STIC экспрессировал только один из исследуемых дополнительных маркеров (p16, stathmin1 и laminin-gamma1). Ни одной STIC, в которой отмечалось бы отсутствие экспрессии всех трех дополнительных маркеров, не обнаружили. Что касается p53-позитивных и p53-негативных STIC, значимые различия в экспрессии маркеров между этими типами поражения не выявлены ( $p > 0,05$ ).

Статистически значимое различие ( $p < 0,01$ ) отмечалось между показателями экспрессии маркеров в неизменном эпителии слизистой оболочки маточной трубы и STIC.

Для понимания полученных данных, следует учесть, что в литературе имеются сведения о нескольких исследованиях, направленных на изучение воспроизводимости критериев диагностики STIC. Некоторые из них основывались на использовании только морфологического метода определения структурных особенностей измененного эпителия маточной трубы [70], другие – на применении дополнительных ИГХ-маркеров (преимущественно p53 и Ki-67) [159, 248, 289, 434]. Несмотря на различие в результатах, полученных в данных исследованиях, общим выводом из них является тот факт, что применение ИГХ исследования существенно улучшает воспроизводимость и точность диагностики STIC (с умеренной при значении карра 0,41–0,60 до хорошей при значении карра 0,61–0,8) [434].



**Рисунок 59.** STIC в маточной трубе у пациентки с серозной карциномой высокой степени злокачественности, выраженная мембранная экспрессия *lamonin-gamma1* во всех клетках атипического эпителия, x 400.



**Рисунок 60.** STIC в маточной трубе у пациентки с серозной карциномой высокой степени злокачественности, выраженная мембранная экспрессия *lamonin-gamma1* во всех клетках атипического эпителия, x 400.

В связи с этим не вызывала сомнения необходимость поиска дополнительных маркеров для еще более высокой воспроизводимости диагнозов STIC.

В нашей диссертационной работе мы изучали экспрессию p16, stathmin1 и laminin-gamma1, которая свойственна HGSC. Известно, что сигнальные пути p16 и p53 пересекаются и направлены на обеспечение нормального цикла развития клетки и ее физиологического старения. Тем не менее, мутации в соответствующих генах изменяют нормальное функционирование этих путей, приводя к неконтролируемой пролиферации клеток с поломками в генетическом аппарате [381]. Кроме того, stathmin1 модулирует активность мутантного p53, также влияя на реализацию сигнального пути последнего при злокачественных опухолях [395]. Следует отметить, что усиленная экспрессия как stathmin1, так и p16 была отмечена в тех HGSC и STIC, для которых характерна отрицательная или слабая экспрессия p53, а при мутационном анализе выявлены нонсенс-мутации [23, 32, 227, 317, 394].

В нашем исследовании экспрессия p16 выявлялась в 85% поражений со структурными особенностями STIC, что частично совпадает с данными литературы [329, 377, 393]. Возможно, более высокие показатели экспрессии p16, полученные нами, объясняются разными способами оценки экспрессии данного маркера. Так, мы считали экспрессию p16 положительной как при диффузной, так и при фокальной реакции, в то время как некоторые другие авторы рассматривали как положительную только диффузную экспрессию p16.

Экспрессия stathmin1, которая отмечена нами в 77,5% STIC, сопоставима с таковой в более раннем опубликованном исследовании [393].

Не менее важные результаты получены и в отношении экспрессии laminin-gamma1, которая свойственна подавляющему большинству STIC, в том числе p53-негативным [406]. Экспрессия данного маркера отличалась не только по интенсивности, но и по локализации: если в неизмененном эпителии слизистой оболочки маточной трубы она была слабой или умеренной лишь в

области базальной мембраны, то в STIC отмечалось специфическое окрашивание всей цитоплазмы атипичных клеток, что облегчает выявление патологически измененных участков эпителия.

Экспрессия laminin-gamma1, также как p16 и stathmin1, наблюдалась не во всех STIC и/или HGSC, однако в каждом случае позитивная экспрессия была свойственна хотя бы двум из трех маркеров.

Известно, что белки семейства ламининов являются важными компонентами базальной мембраны, и экспрессия специфических изоформ ламинина в экстрацеллюлярном матриксе имеет существенное значение в регуляции опухолевого роста, инвазии и метастазировании [322].

Несмотря на то, что механизм влияния laminin-gamma1 на прогрессирование опухолевого роста до конца неизвестен, возможно, он связан с участием данного белка в адгезии, выживаемости и диссеминации STIC. Способствовать распространению опухолевой ткани могут и клетки мезотелия брюшины, которые содержат рецепторы к ламининам [333].

Таким образом, в своем исследовании мы наблюдали стабильно высокую экспрессию маркеров p16, stathmin1 и laminin-gamma1 в области серозных интраэпителиальных карцином слизистой оболочки маточной трубы, как при наличии, так и при отсутствии экспрессии p53 в атипических клетках.

Во всех случаях нами была выявлена положительная экспрессия хотя бы двух из трех маркеров, что позволяет рекомендовать их сочетанное применение при отсутствии или пограничных показателях экспрессии p53 в опухолевой ткани.

Полученные результаты, а также данные литературы позволяют предположить, что биологическое значение экспрессии изученных белков в серозных интраэпителиальных карциномах слизистой оболочки маточной трубы состоит в повышении способности пораженного участка к выживанию и диссеминации.

Для подкрепления полученных данных с практической точки зрения нами была проведена комплексная оценка воспроизводимости диагнозов как предложенных нами алгоритмов диагностики ГИА и STIC, так и диагнозов, поставленных с использованием общепринятых критериев (для интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы без фенотипического изменения эпителиоцитов).

### **3.4. Определение воспроизводимости диагнозов гиперпластических изменений и интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы**

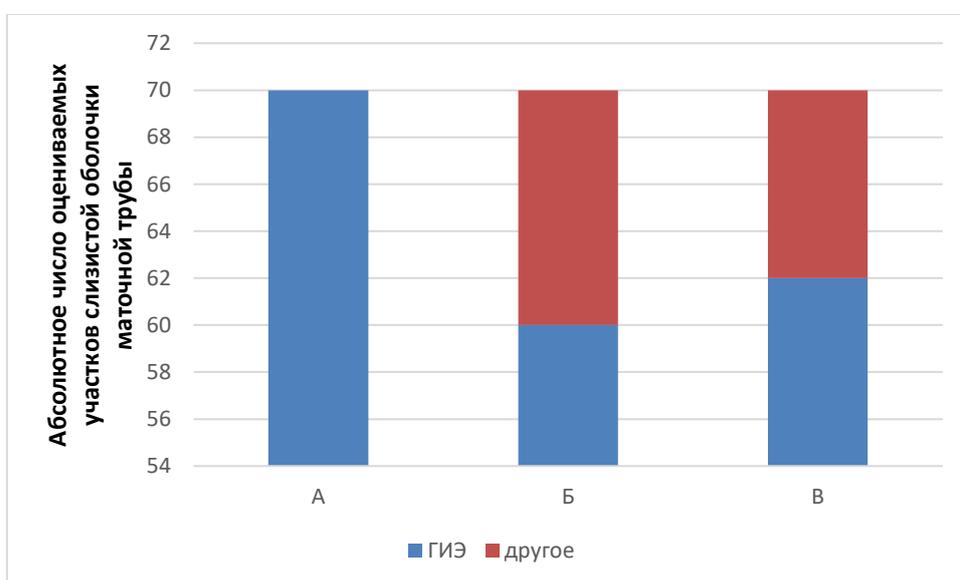
#### **3.4.1. Определение воспроизводимости диагнозов гиперпластических изменений слизистой оболочки маточной трубы**

Для оценки воспроизводимости диагнозов гиперпластических изменений слизистой оболочки маточной трубы на световом уровне была проведена оценка воспроизводимости диагнозов с учетом традиционных критериев (наличия мелких папиллярных структур в просвете маточной трубы и псаммомных телец) и дополнительных критериев (формирования плотного расположения складок эндосальпинкса и папиллярных выростов в просвет маточной трубы). Оцениваемые участки эпителия маточных труб были разделены бинарно – патолог должен быть определить, соответствует ли слизистая оболочка маточной трубы ГИЭ или нет. Всего в исследование воспроизводимости включено 100 образцов эпителия маточной трубы, которые были независимо оценены тремя гинекологическими патологами (условно обозначены А, Б, В).

Было выявлено, что показатель воспроизводимости для ГИЭ на основании традиционных критериев составил для патологов А и Б – 0,85, для патологов А и В – 0,89, для патологов Б и В – 0,75. Общий показатель kappa для данного типа эпителия составил 0,67 (kappa 1). Показатель воспроизводимости ГИЭ на основании дополнительных критериев, предложенных нами, составил: для патологов А и Б – 0,87, для патологов А и

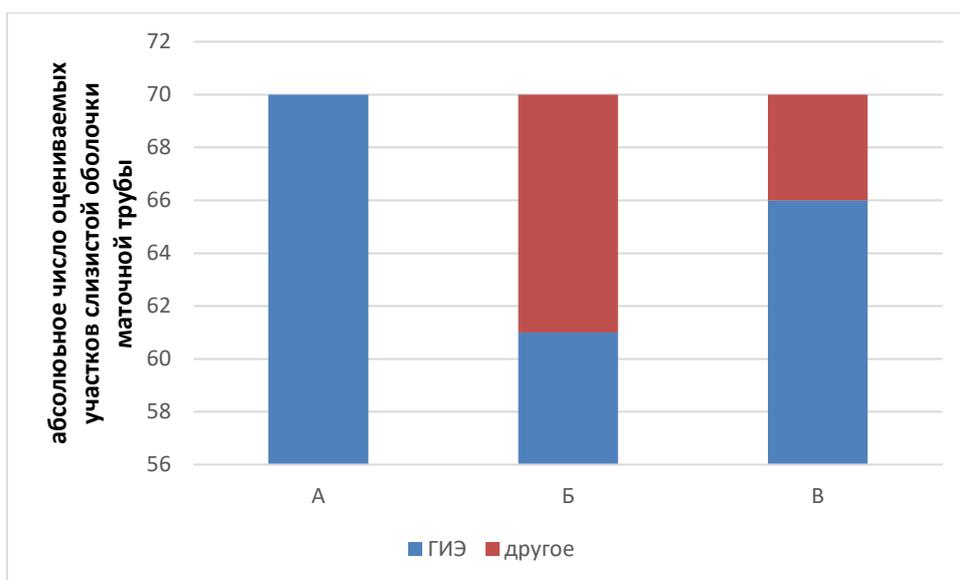
В – 0,95, для патологов Б и В – 0,82. Общий показатель карра для данного типа эпителия составил 0,73(карра 2). Была отмечено статистически достоверное различие между карра 1 и карра 2 ( $p < 0,05$ ) (рис.61-62).

При дополнительном применении ИГХ-маркеров (p53 и Ki-67) было выявлено, что показатель воспроизводимости для ГИЭ составил для патологов А и Б – 0,95, для патологов А и В – 0,92, для патологов Б и В – 0,87. Общий показатель карра для данного типа эпителия составил 0,75 (карра 3) и достоверно не отличался от такового при применении световой микроскопии с использованием дополнительных критериев ( $p > 0,05$ ) (рис. 63).



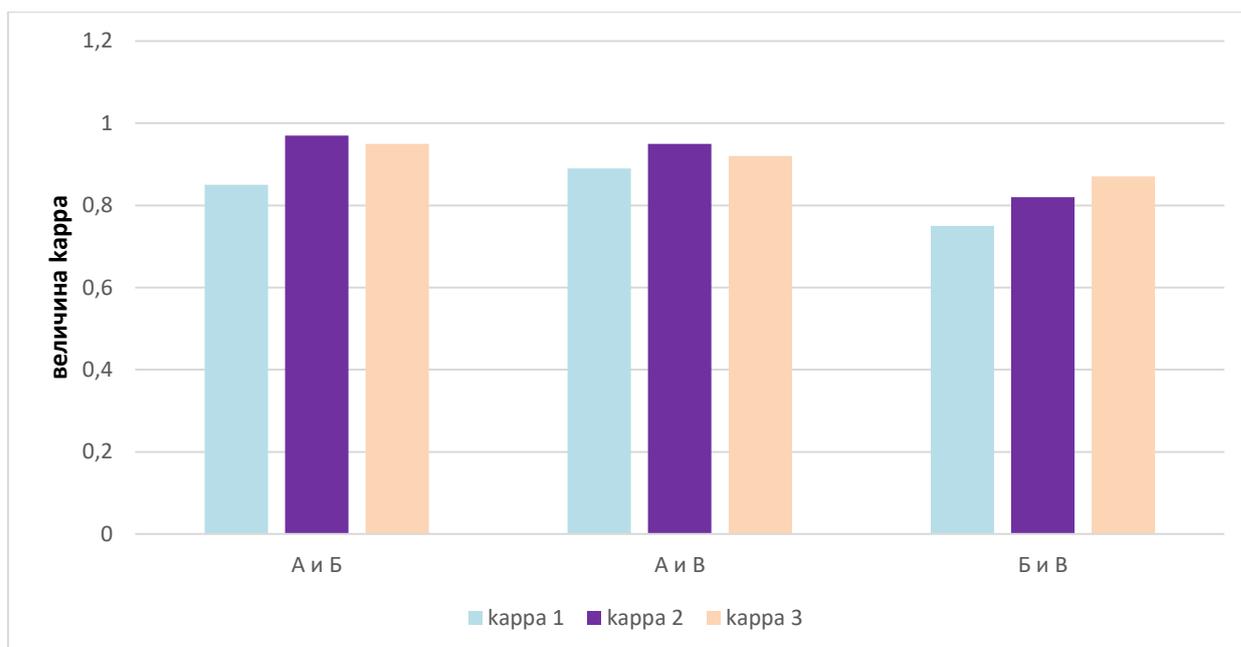
**Рисунок 61.**

Показатель воспроизводимости карра для ГИЭ (традиционные критерии)



**Рисунок 62.**

Показатель воспроизводимости карра для ГИЭ (дополнительные критерии)



**Рисунок 63.** Общие показатели воспроизводимости между всеми патологами для ГИЭ (с использованием традиционных критериев (кappa1), дополнительных критериев (кappa2) и ИГХ (кappa3))

### 3.4.2. Определение воспроизводимости диагнозов интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы

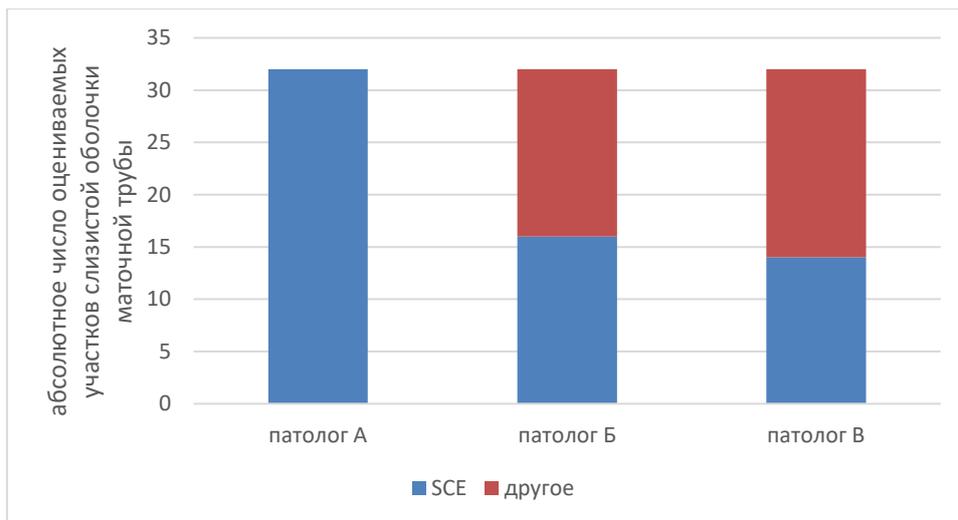
#### 3.4.2.1. Определение воспроизводимости диагнозов интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы без фенотипических изменений эпителиоцитов

Для оценки воспроизводимости диагнозов SCE и SCOUT были отобраны образцы 100 маточных труб, которые были независимо оценены тремя гинекологическими патологами (условно обозначены А, Б, В). Оцениваемые участки эпителия маточных труб были разделены бинарно – патолог должен быть определить, соответствует ли слизистая оболочка маточной трубы SCE или SCOUT, или нет.

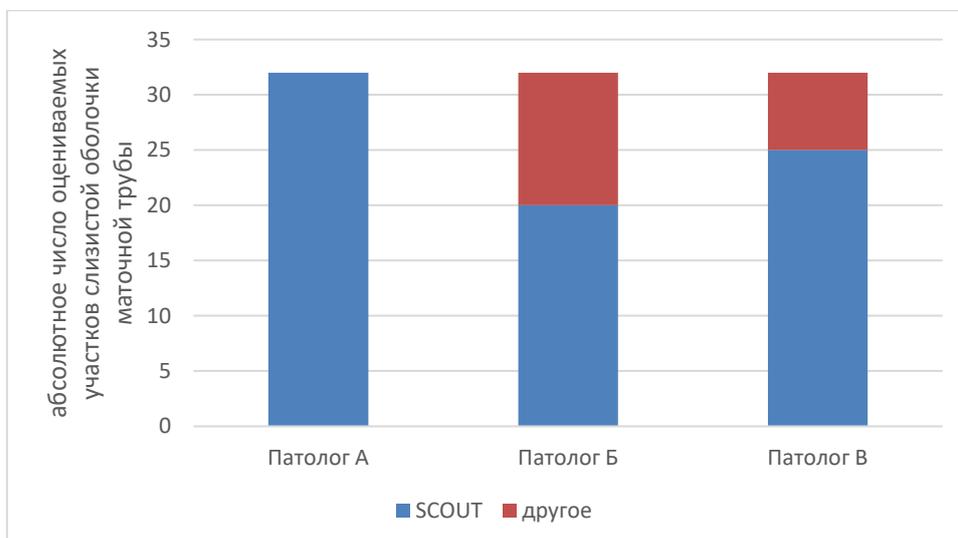
Было выявлено, что показатель воспроизводимости для SCE с использованием световой микроскопии составил для патологов А и Б – 0,78, для патологов А и В – 0,75, для патологов Б и В – 0,73. Общий показатель kappa для данного типа эпителия составил 0,67. Показатель

воспроизводимости для SCOUT с использованием световой микроскопии составил для патологов А и Б – 0,80, для патологов А и В – 0,74, для патологов Б и В – 0,79. Общий показатель карра для данного типа эпителия составил 0,71 (рис 64-65).

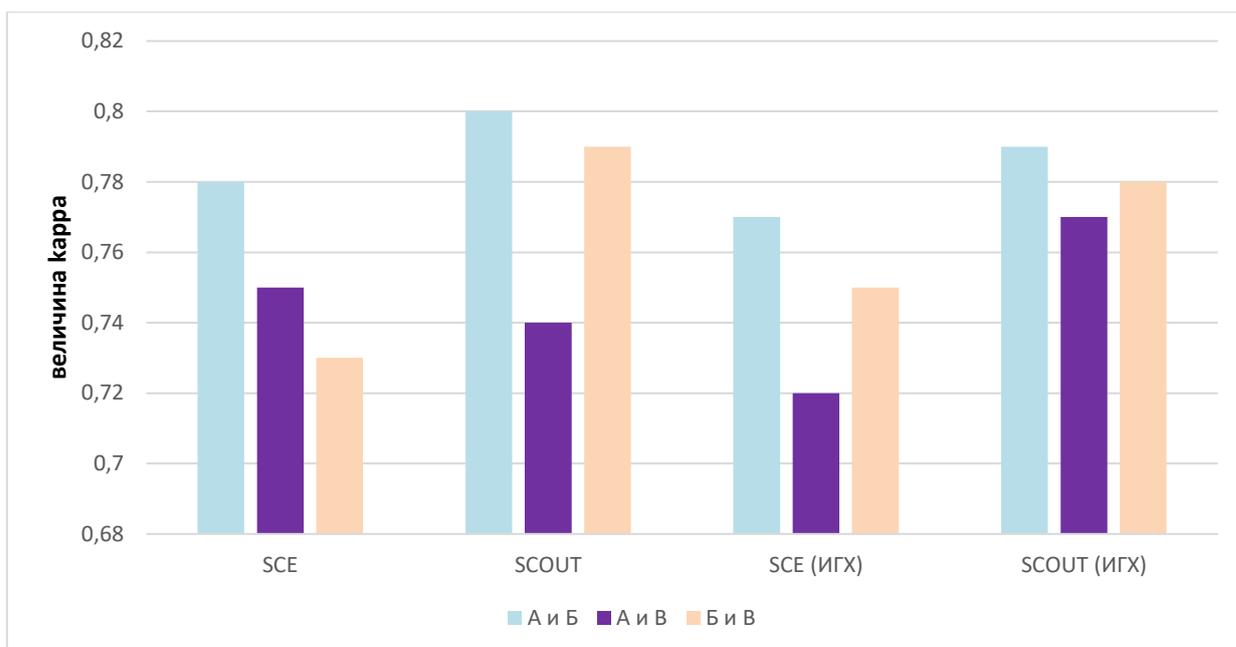
При применении дополнительных ИГХ-маркеров (Vcl-2, PAX2,  $\beta$ -catenin) показатель воспроизводимости достоверно не изменился ( $p>0,05$ ). Так, показатель воспроизводимости SCE при применении ИГХ для патологов А и Б составил – 0,77, для патологов А и В – 0,72, для патологов Б и В – 0,75. Общий показатель карра для данного типа эпителия составил 0,68. Показатель воспроизводимости SCOUT при применении ИГХ для патологов А и Б составил – 0,79, для патологов А и В – 0,77, для патологов Б и В – 0,78. Общий показатель карра для данного типа эпителия составил 0,74 (рис. 66).



**Рисунок 64.**  
Показатель воспроизводимости карра для SCE (световая микроскопия)



**Рисунок 65.**  
Показатель воспроизводимости карра для SCOUT (световая микроскопия)



**Рисунок 66.** Общие показатели воспроизводимости между всеми патологами для SCE и SCOUT (световая микроскопия и ИГХ)

Схожие результаты были получены и другими исследователями [204, 289]. Приведенные данные свидетельствуют о том, что световая микроскопия является достаточным методом исследования для постановки диагноза ГИЭ, SCE и SCOUT.

### **3.4.2.2. Определение воспроизводимости диагнозов интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы с фенотипическими изменениями эпителиоцитов**

Для определения необходимости применения дополнительных маркеров для диагностики STIC и выбора оптимальной диагностической панели нами была проведена оценка показателя воспроизводимости карра для диагностики на световом уровне, с использованием стандартного набора ИГХ-маркеров (p53 и Ki-67) и разработанной нами панели (дополненной p16, laminin-gamma1 и stathmin). Данные показатели были рассчитаны ниже описанным образом.

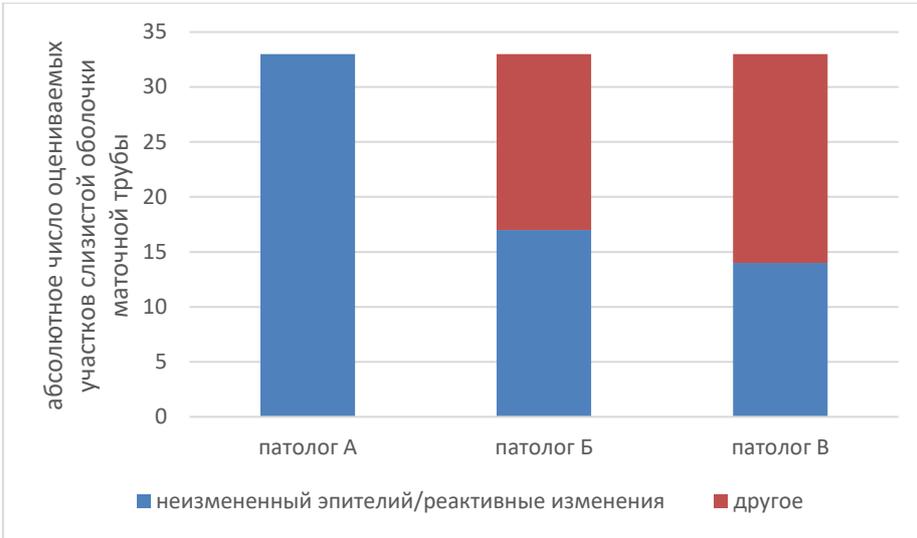
Для оценки воспроизводимости диагнозов на световом уровне, оцениваемые участки эпителия маточных труб были разделены на три группы: неизмененный эпителий/эпителий с реактивными изменениями,

подозрительный в отношении STIC эпителий и соответствующий критериям STIC (по алгоритму R. Vang) [434].

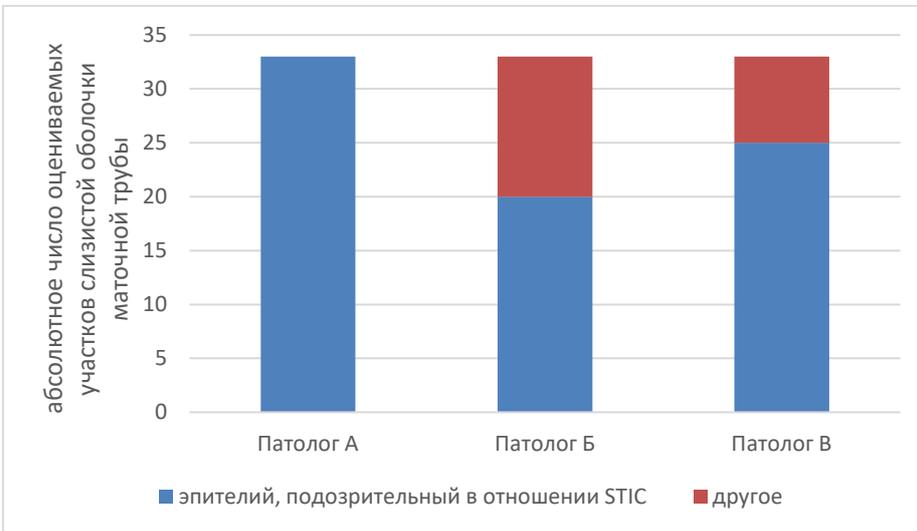
Всего в исследование воспроизводимости включено 100 образцов эпителия маточной трубы, которые были независимо оценены тремя гинекологическими патологами (условно обозначены А, Б, В) после прохождения ими тренировки с помощью набора тестовых микрофотографий (на сайте [www.ovariancancerresearch.com](http://www.ovariancancerresearch.com)). При этом, наиболее опытный в оценке эпителия маточной трубы патолог (А) был ответственен за первоначальную диагностику поражений.

Было выявлено, что показатель воспроизводимости для неизменного эпителия/эпителия с реактивными изменениями составил для патологов А и Б – 0,73, для патологов А и В – 0,78, для патологов Б и В – 0,54. Общий показатель карра для данного типа эпителия составил 0,37. Показатель воспроизводимости для эпителия, подозрительного в отношении STIC составил для патологов А и Б - 0,69, для патологов А и В – 0,62, для патологов Б и В – 0,42. Общий показатель карра для данного типа эпителия составил 0,30. Показатель воспроизводимости для эпителия, соответствующего STIC составил для патологов А и Б - 0,57, для патологов А и В – 0,63, для патологов Б и В – 0,54. Общий показатель карра для данного типа эпителия составил 0,6.

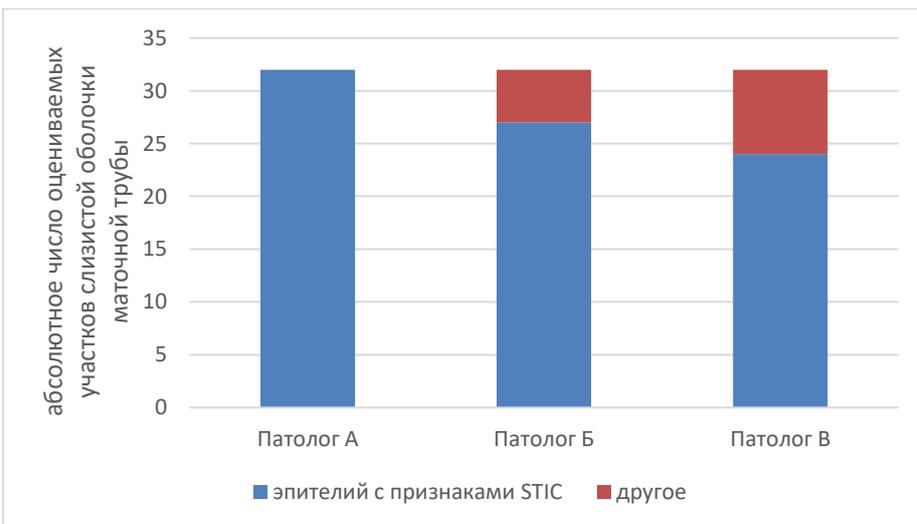
Для всех трех оцениваемых категорий показатель воспроизводимости составил 0,42 (умеренная воспроизводимость) (рис. 67-70). Схожие данные были получены и в других исследованиях [159, 378].



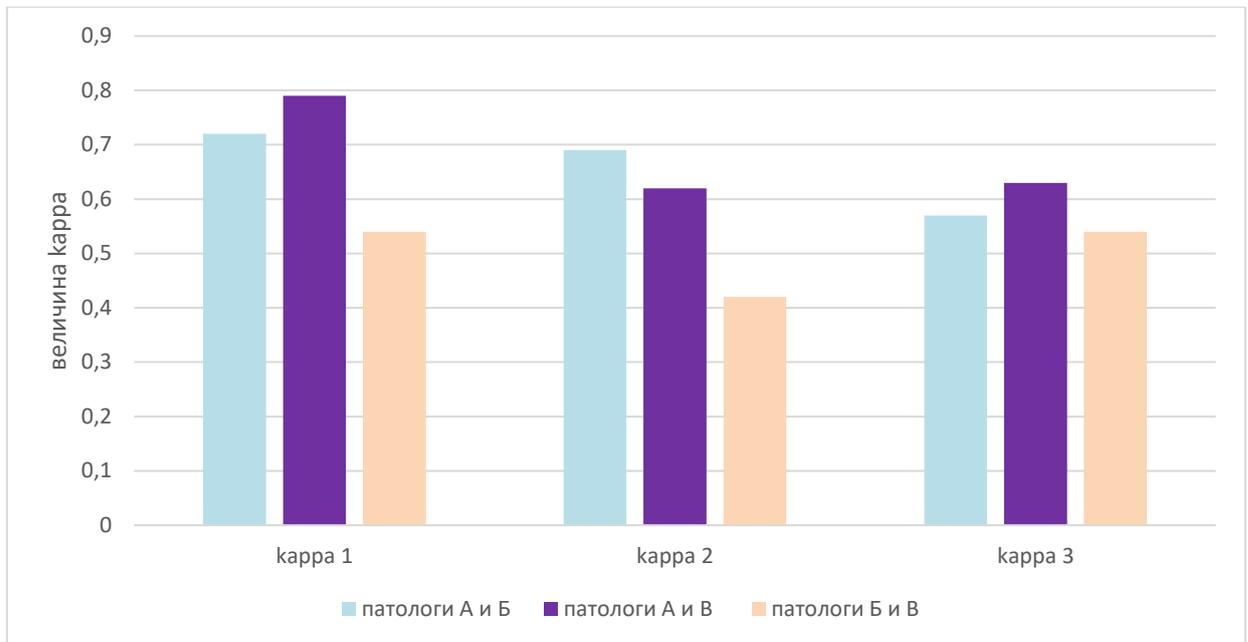
**Рисунок 67.** Показатель воспроизводимости карра для неизмененного эпителия/эпителия с реактивными изменениями (карра1)



**Рисунок 68.** Показатель воспроизводимости карра для эпителия, подозрительного в отношении STIC (карра 2)



**Рисунок 69.** Показатель воспроизводимости карра для эпителия с признаками STIC (карра 3)



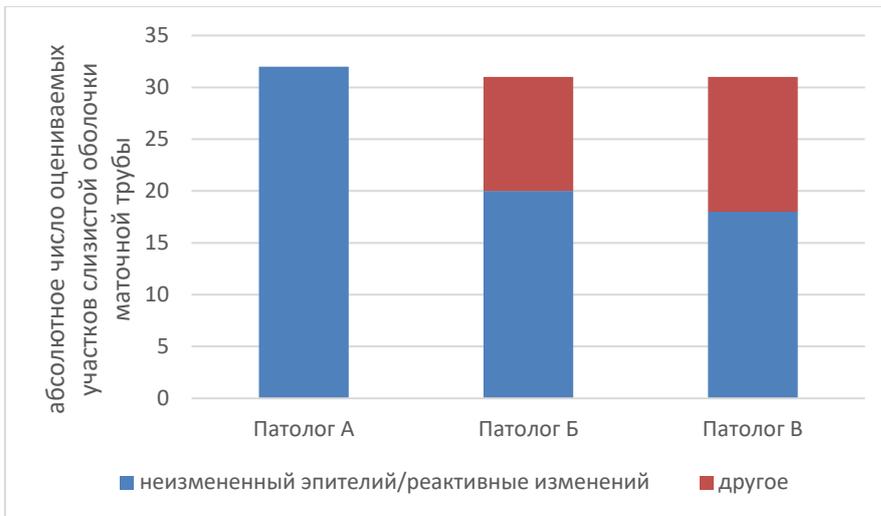
**Рисунок 70.** Общие показатели воспроизводимости между всеми патологами для неизменного эпителия/эпителия с реактивными изменениями, эпителия,

При применении ИГХ-маркеров, предложенных R.Vang (p53 и Ki-67), были оценены следующие категории: неизменный эпителий/реактивные изменения, p53-signature, STIL, STIC. Показатели kappa был следующим: для неизменного эпителия/эпителия с реактивными изменениями составил для патологов А и Б – 0,62, для патологов А и В – 0,56, для патологов Б и В – 0,87. Общий показатель kappa для данного типа эпителия составил 0,56.

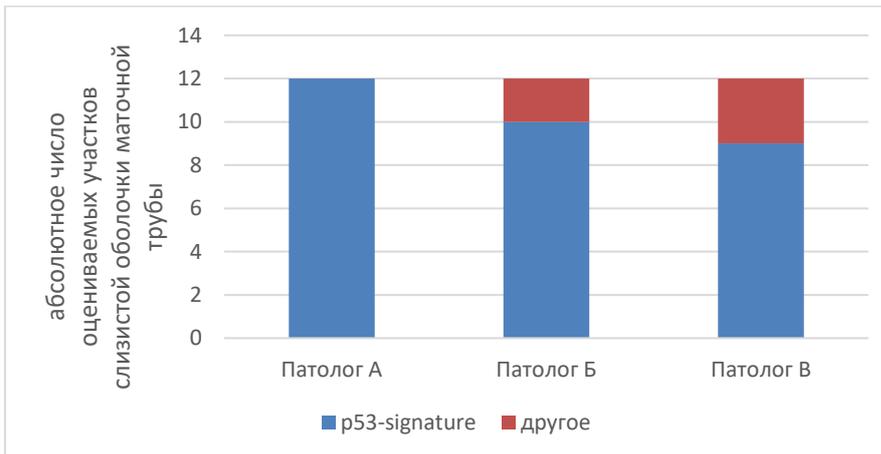
Показатель воспроизводимости для эпителия, соответствующего p53-signature составил для патологов А и Б – 0,79, для патологов А и В – 0,83, для патологов Б и В – 0,87. Общий показатель kappa для данного типа эпителия составил 0,63.

Показатель воспроизводимости для эпителия, соответствующего STIL составил для патологов А и Б – 0,51, для патологов А и В – 0,54, для патологов Б и В – 0,48. Общий показатель kappa для данного типа эпителия составил 0,27. Показатель воспроизводимости для эпителия, соответствующего STIC, составил для патологов А и Б – 0,94, для патологов А и В – 0,85, для патологов Б и В – 0,81. Общий показатель kappa для данного типа эпителия составил 0,76.

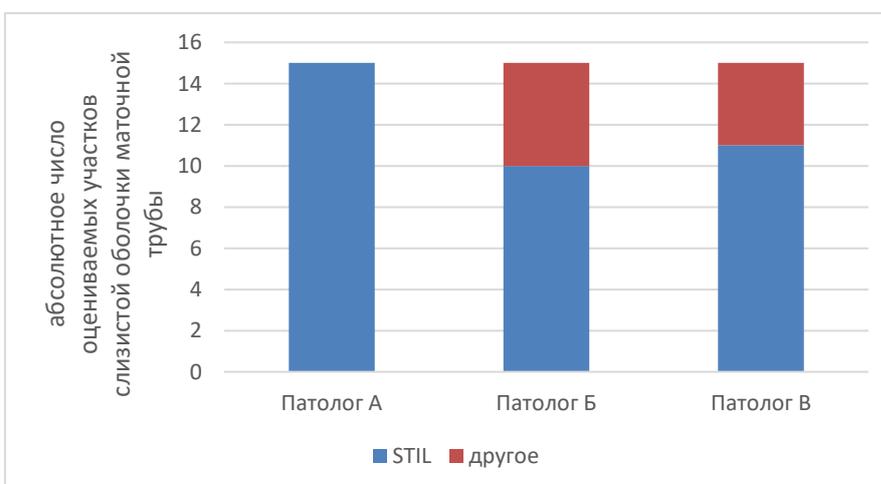
Для всех трех оцениваемых категорий показатель воспроизводимости составил 0,73 (хорошая воспроизводимость) (рис. 71-75).



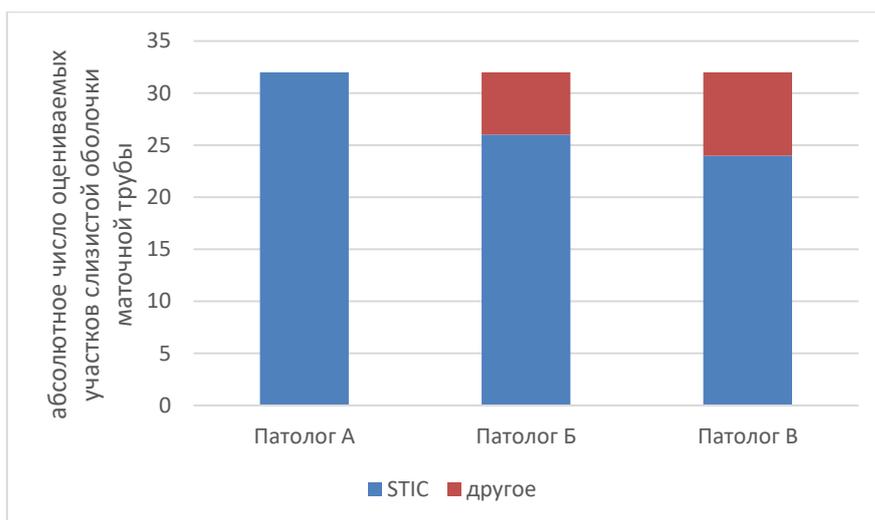
**Рисунок 71.** Показатели воспроизводимости карра для неизменного эпителия/эпителия с реактивными изменениями при применении ИГХ-маркеров p53 и Ki-67 (карра 4)



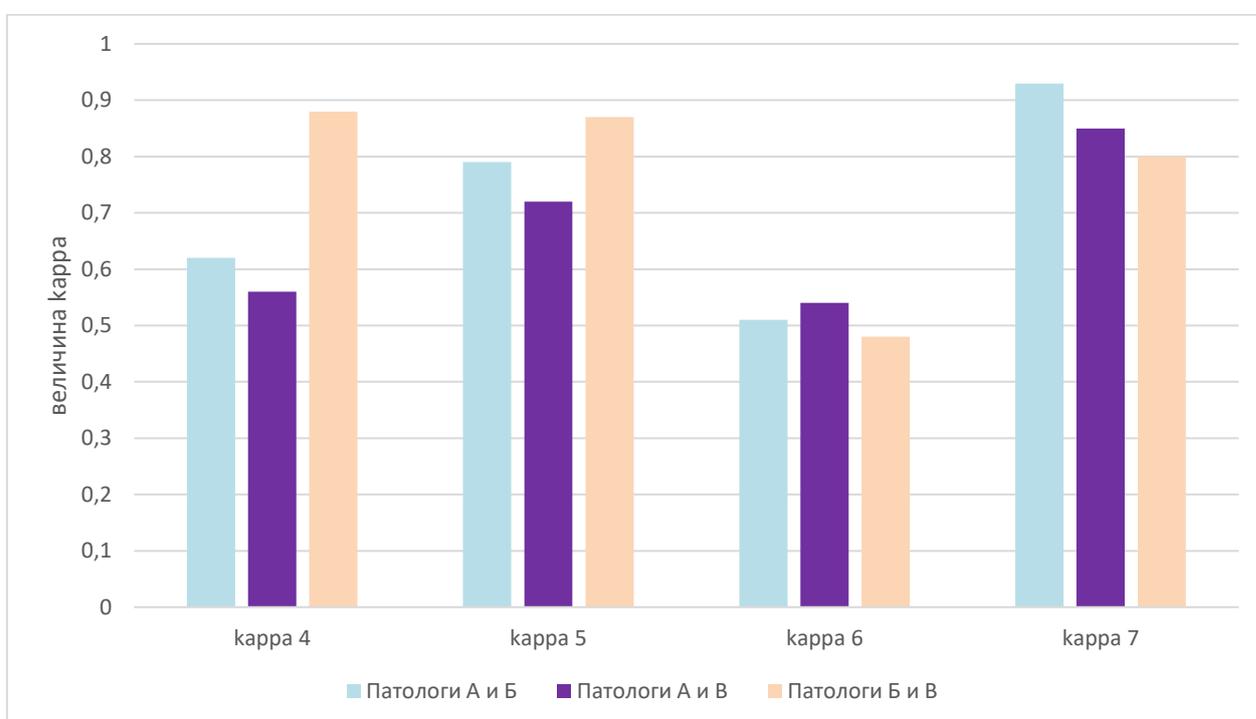
**Рисунок 72.** Показатели воспроизводимости карра для p53-signature при применении ИГХ-маркеров p53 и Ki-67 (карра 5)



**Рисунок 73.** Показатели воспроизводимости карра для STIL при применении ИГХ-маркеров p53 и Ki-67 (карра 6)



**Рисунок 74.** Показатели воспроизводимости карра для STIC при применении ИГХ-маркеров p53 и Ki-67 (карра 7)

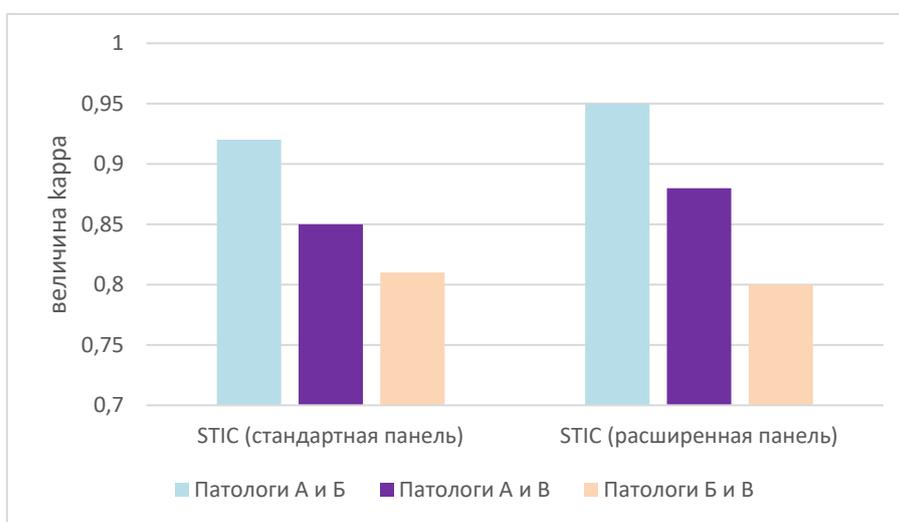


**Рисунок 75.** Общие показатели воспроизводимости между всеми патологиями для неизмененного эпителия/эпителия с реактивными изменениями, эпителия, подозрительного в отношении STIC и эпителия с признаками STIC при применении ИГХ-маркеров p53 и Ki-67.

Таким образом применение стандартной панели ИГХ-маркеров показатель воспроизводимости карра увеличился на 0,31 ( $p < 0,05$ ). Авторам алгоритма R. Vang также удалось улучшить данный показатель (до 0,67).

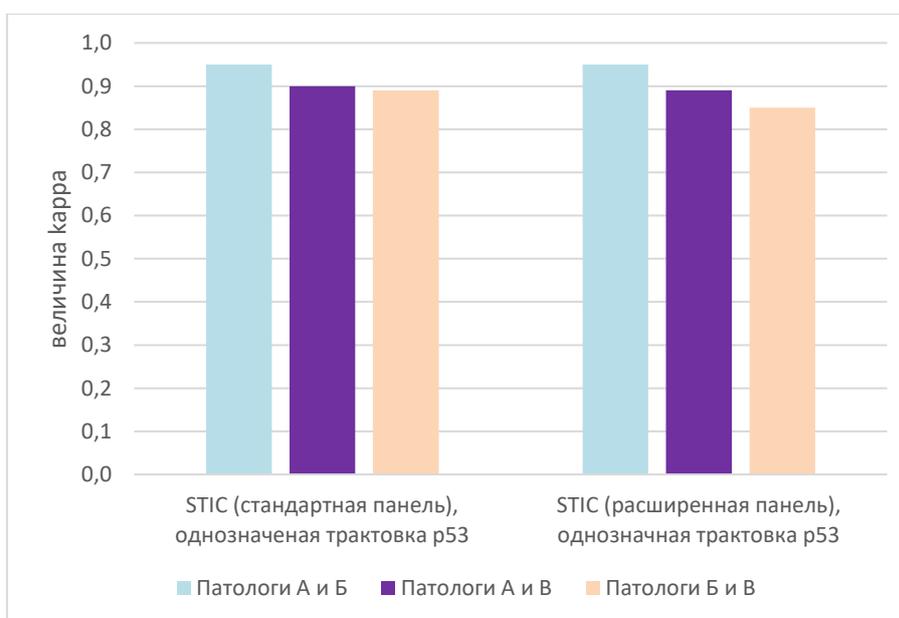
Отдельно оценивалась воспроизводимость предложенной нами панели ИГХ-маркеров (p16/laminin-gamma1/stathmin1). Для эпителия,

соответствующего STIC, показатель воспроизводимости при применении данной панели составил: для патологов А и Б – 0,95, для патологов А и В – 0,87, для патологов Б и В – 0,80. Общий показатель карра для данного типа эпителия составил 0,76. Это на 0,03 увеличило показатель воспроизводимости по сравнению со стандартной панелью, что, однако было статистически не значимо ( $p > 0,05$ ). При исследовании только случаев, в которых экспрессия p53 была сомнительной, и согласно алгоритма R. Vang показатель карра был умеренным (0,55), при применении предложенной нами панели показатель воспроизводимости диагнозов повысился до 0,72 ( $p < 0,05$ ) (рис. 76-78).



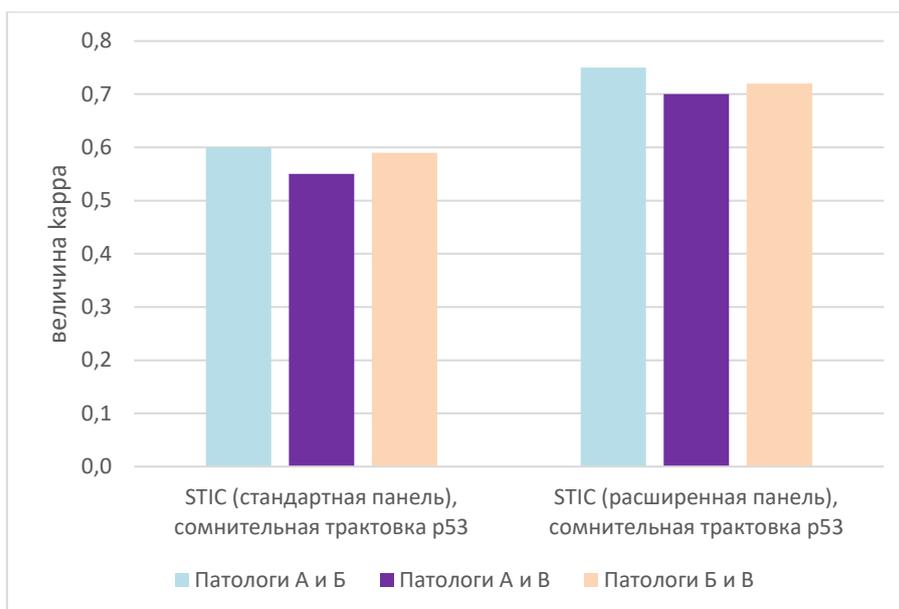
**Рисунок 76.**

Показатели воспроизводимости карра для всех типов STIC (патологи А, Б и В)



**Рисунок 77.**

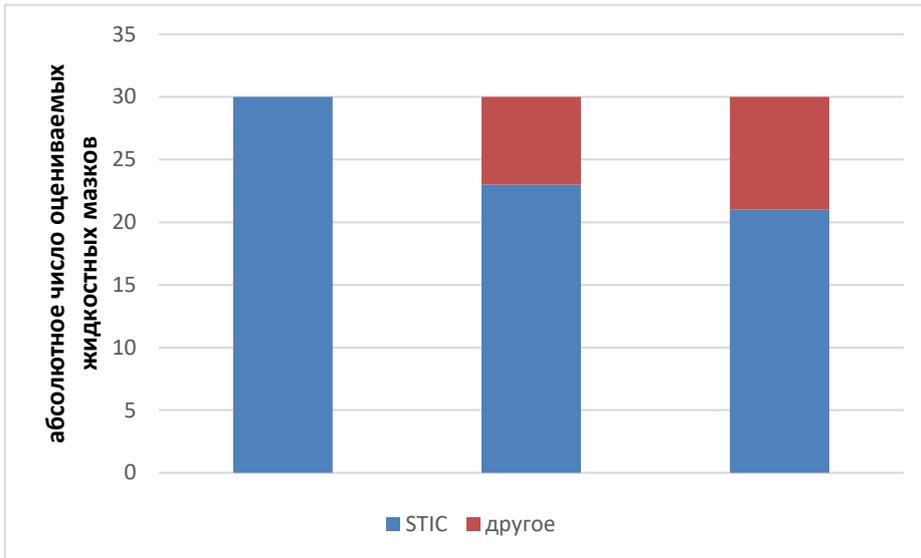
Показатели воспроизводимости карра для STIC с однозначной трактовкой экспрессии p53 (патологи А, Б и В)



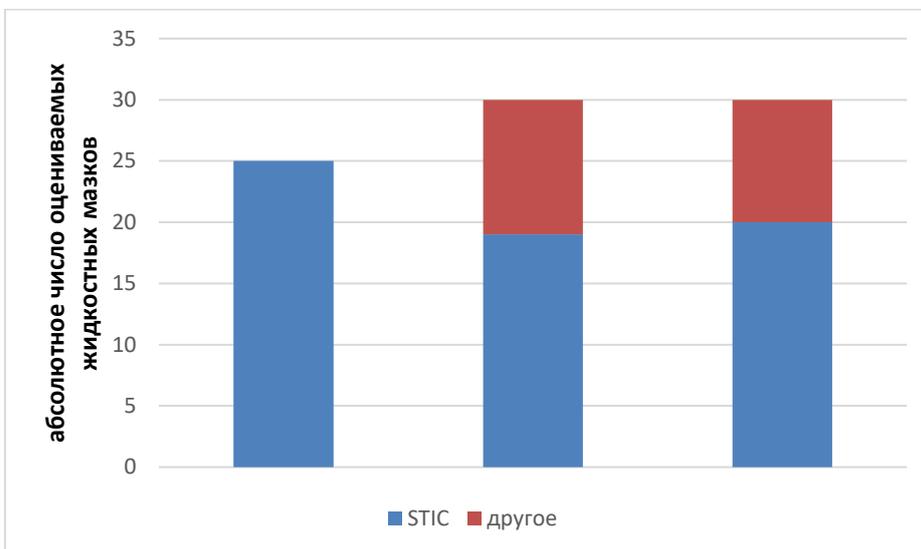
**Рисунок 78.**  
Показатели воспроизводимости карра для STIC с сомнительной трактовкой экспрессии p53 (патологи А, Б и В)

Таким образом, хорошая воспроизводимость для диагностики STIC может быть достигнута только при применении ИГХ-исследования с антителами к Ki-67 и p53 и дополнительной панели p16/laminin-gamma1/stathmin1, особенно при трудности интерпретации экспрессии p53.

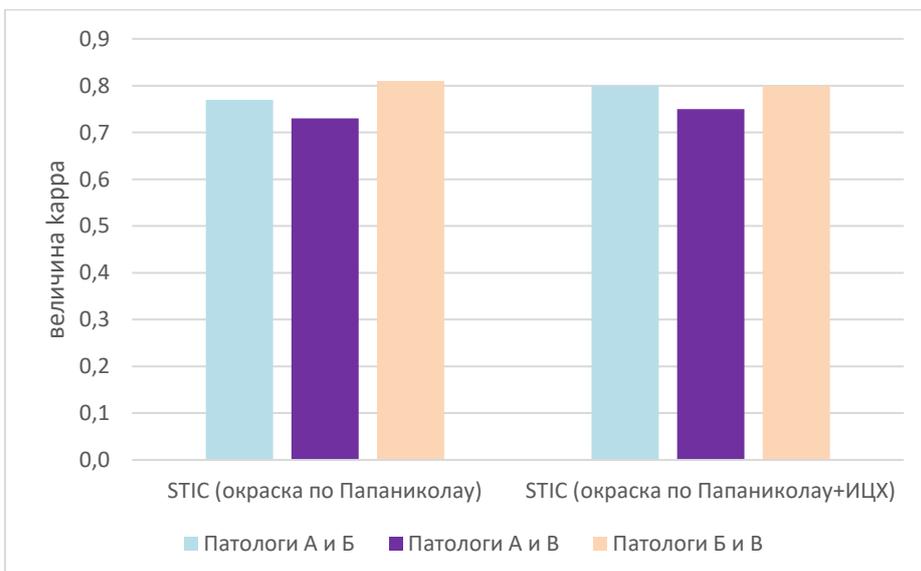
При оценке воспроизводимости диагнозов STIC, поставленных с помощью цитологического и иммуноцитохимического исследования были получены следующие результаты: для оценки воспроизводимости STIC были отобраны образцы 30 маточных труб, которые были независимо оценены тремя гинекологическими патологами (условно обозначены А, Б, В). Оцениваемые участки эпителия маточных труб были разделены бинарно – патолог должен быть определить, соответствует ли слизистая оболочка маточной трубы STIC или нет. Было выявлено, что показатель воспроизводимости для STIC с использованием световой микроскопии составил для патологов А и Б – 0,77, для патологов А и В – 0,73, для патологов Б и В – 0,81. Общий показатель карра для данного типа эпителия составил 0,70. Показатель воспроизводимости STIC с использованием ИЦХ-метода составил для патологов А и Б – 0,80, для патологов А и В – 0,75, для патологов Б и В – 0,80. Общий показатель карра для данного типа эпителия составил 0,75 (рис. 79-81).



**Рисунок 79.** Показатель воспроизводимости карра для STIC (световая микроскопия), цитологический метод



**Рисунок 80.** Показатель воспроизводимости карра для STIC (иммуноцитохимический метод)



**Рисунок 81.** Общие показатели воспроизводимости между всеми патологиями для STIC с применением цитологического метода без и с ИЦХ

Таким образом, нами было показано, что для постановки диагноза ГИЭ, интраэпителиальных поражений без фенотипического изменения эпителиоцитов рекомендуется применение светового микроскопического исследования, при котором показатель воспроизводимости для данных патологических процессов составляет от 0,67 до 0,73. При дополнительном применении ИГХ-маркеров (p53, Ki-67, PAX-2, Vcl-2 показатель воспроизводимости существенно не изменяется ( $p > 0,05$ ). Применение панели иммуногистохимических маркеров p53 и Ki-67 в сочетании с p16/laminin-gamma1/stathmin1 достоверно увеличивает показатель воспроизводимости для интраэпителиальной карциномы маточной трубы по сравнению с таковой при световом микроскопическом исследовании ( $p < 0,05$ ). При интраэпителиальной карциномы маточной трубы с сомнительной интерпретацией p53 увеличение показателя воспроизводимости статистически особенно значимое (от 0,55 до 0,72,  $p < 0,05$ ). Уровень воспроизводимости  $> 0,7$  для интраэпителиальной карциномы маточной трубы может быть достигнут только при применении ИГХ-исследования с антителами к Ki-67 и p53 (при однозначной интерпретации экспрессии p53) и дополнительной панели p16/laminin-gamma1/stathmin1 – при трудности интерпретации экспрессии данного маркера. При этом, применение иммуноцитохимического маркера позволило повысить воспроизводимость диагноза STIC по цитологическому мазку с 0,7 до 0,75, однако достоверных различий выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

Полученные данные позволяют сделать вывод о возможностях различных цитологических и гистологических методов исследования в диагностике патологических изменений маточной трубы, однако исследование этих изменений на молекулярном уровне позволило нам не только дать обоснование неинвазивному методу дифференциальной диагностики HGSC и серозных пограничных опухолей, но и внесло вклад в подтверждения концепции дуального морфогенеза серозных карцином (LGSC, непосредственными предшественниками которых являются серозные пограничные опухоли и HGSC, предшественниками которых являются STIC).

Для более «чистой» с генетической точки зрения выборки нами также была проведена оценка мутации в генах BRCA 1/2 ткани опухоли включенных в исследование пациенток в HGSC.

### **3.5. Молекулярно-генетические исследования слизистой оболочки маточной трубы и ткани опухоли при серозных опухолях яичника**

#### **3.5.1. Мутации в генах BRCA 1/2 в образцах серозных карцином яичника высокой степени злокачественности**

Мутации в гене BRCA1 были выявлены в 11 образцах: 6 мутаций и 2 гетерозиготы 5382insC, 2 мутации и 1 гетерозигота 4153delA, 1 мутация 185delAG. Эти мутации описаны ранее, в том числе, и в российской популяции. Было показано, что они связаны с более высоким, чем популяционный, риском развития рака яичников [45]: частота встречаемости мутантного аллеля среди всех мутаций гена BRCA1/2 при раке яичников: для мутации 185delAG – 3,2%, для мутации 4153delA – 55,6%, для мутации 5382insC – 11,1%.

В нашем исследовании самой частой мутацией была мутация 5382insC, что может быть обусловлено небольшой выборкой и географической монотонностью исследуемых образцов (большинство пациенток – жительницы Москвы и Московской области). Для того, чтобы сделать выборку пациенток с серозным раком яичников высокой степени злокачественности более единообразной (с включением только спорадических случаев) для дальнейших исследований пациентки с выявленными мутациями в генах BRCA 1/2 были исключены из выборки.

#### **3.5.2. Молекулярные особенности серозной карциномы яичников высокой степени злокачественности, серозной пограничной цистаденомы, серозной доброкачественной цистаденомы и фимбриального отдела маточных труб по профилю экспрессии мкРНК методом глубокого секвенирования**

В результате проведенного исследования были сформированы списки, состоящие из мкРНК, дифференциально экспрессированных в тканях

фимбриального отдела маточных труб при серозной цистаденоме, серозной пограничной опухоли и HGSC, а также при сравнении образцов ткани самих опухолей с тканью фимбриального отдела маточных труб (кратность изменений  $>2$ ,  $p < 0,05$ ).

При анализе экспрессии ткани фимбриального отдела маточных труб при серозной цистаденоме наиболее значимым было изменение экспрессии мкРНК miR-195-5p, miR-22-3p, miR-197-3p, miR-204-5p, miR-101-3p.

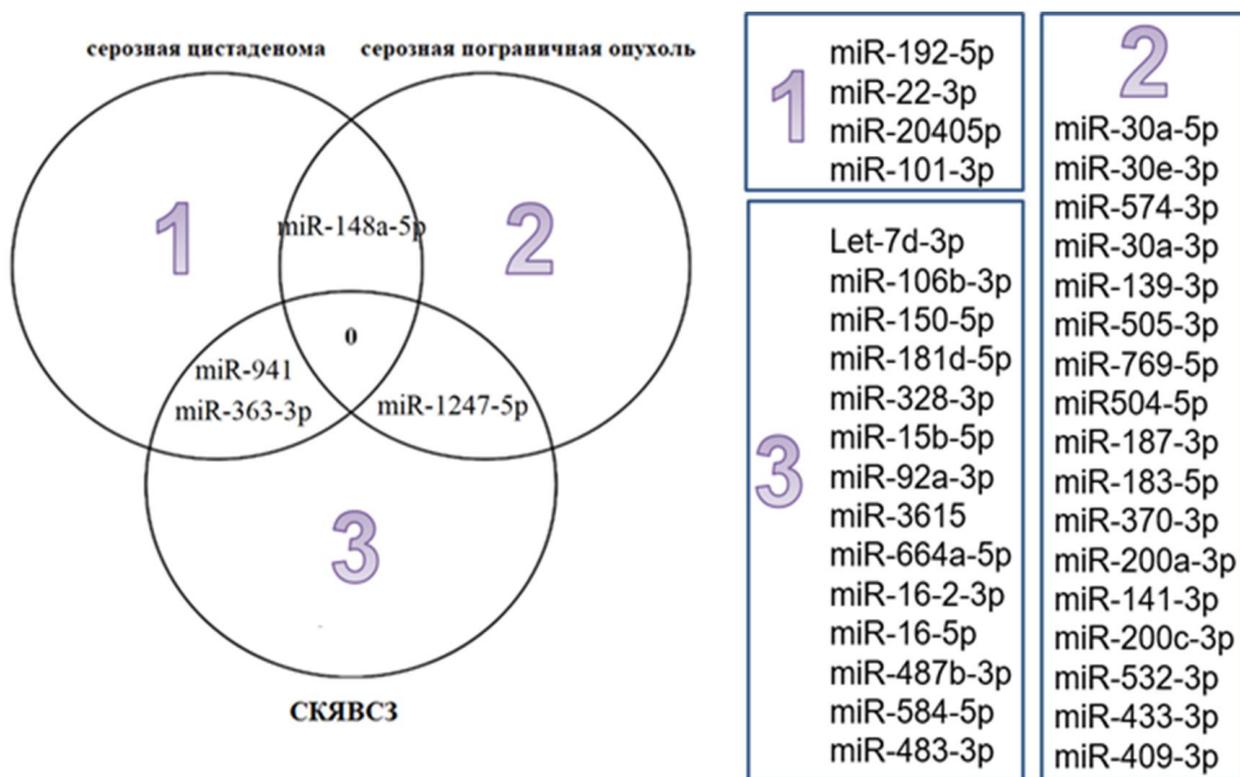
При анализе экспрессии ткани фимбриального отдела маточных труб при серозной пограничной опухоли наиболее значимым было изменение экспрессии мкРНК miR-30a-5p, miR-30e-3p, miR-574-3p, miR-30a-3p, miR-139-3p, miR127-3p, miR-505-3p, miR-769-5p, miR-504-5p, miR-187-3p, miR183-5p, miR-370-3p, miR200a-3p, miR-141-3p, miR-532-3p, miR-433-3p, miR-409-3p.

При анализе экспрессии ткани фимбриального отдела маточных труб при HGSC наиболее значимым было изменение экспрессии мкРНК let-7d-3p, miR-106h-3p, miR-150-5p, miR-181d-5p, miR-328-3p, miR-15b-5p, miR-92a-3p, miR-3615, miR-664a-5p, miR-16-2-3p, miR-16-5p, miR-374a-5p, miR-487b-3p, miR-584-5p, miR-483-3p.

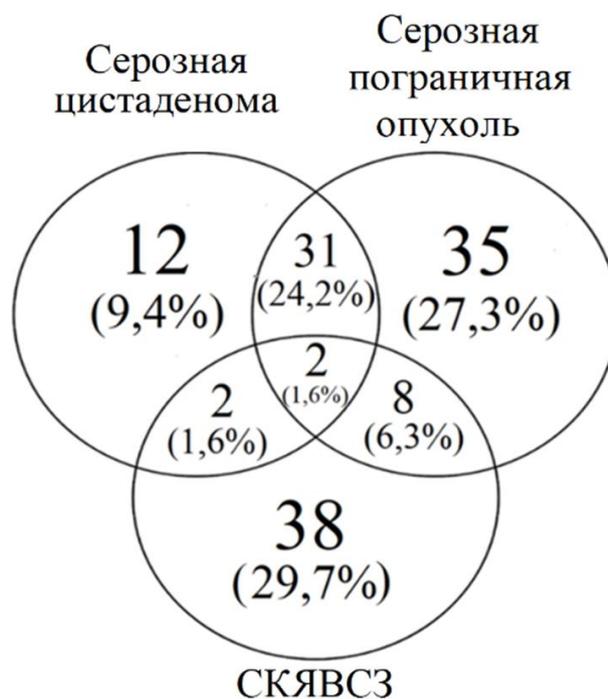
При этом, общим для серозной цистаденомы и серозной пограничной опухоли являлось изменение экспрессии мкРНК miR-148a-5p, для серозной цистаденомы и HGSC - miR-941 и miR-363-3p, для серозной пограничной опухоли и HGSC – miR-1247-5p (**рис. 82**).

Следует отметить, что изменений экспрессии какой-либо мкРНК, общих для всех трех типов опухолей, не отмечалось.

При сравнении профиля экспрессии ткани серозных опухолей с тканью неизменной маточной трубы следует отметить, что общность экспрессии значительно более выражена между серозной цистаденомой и серозной пограничной опухолью (24,2%), чем между серозной пограничной опухолью и HGSC (6,3%) (**рис. 83**).

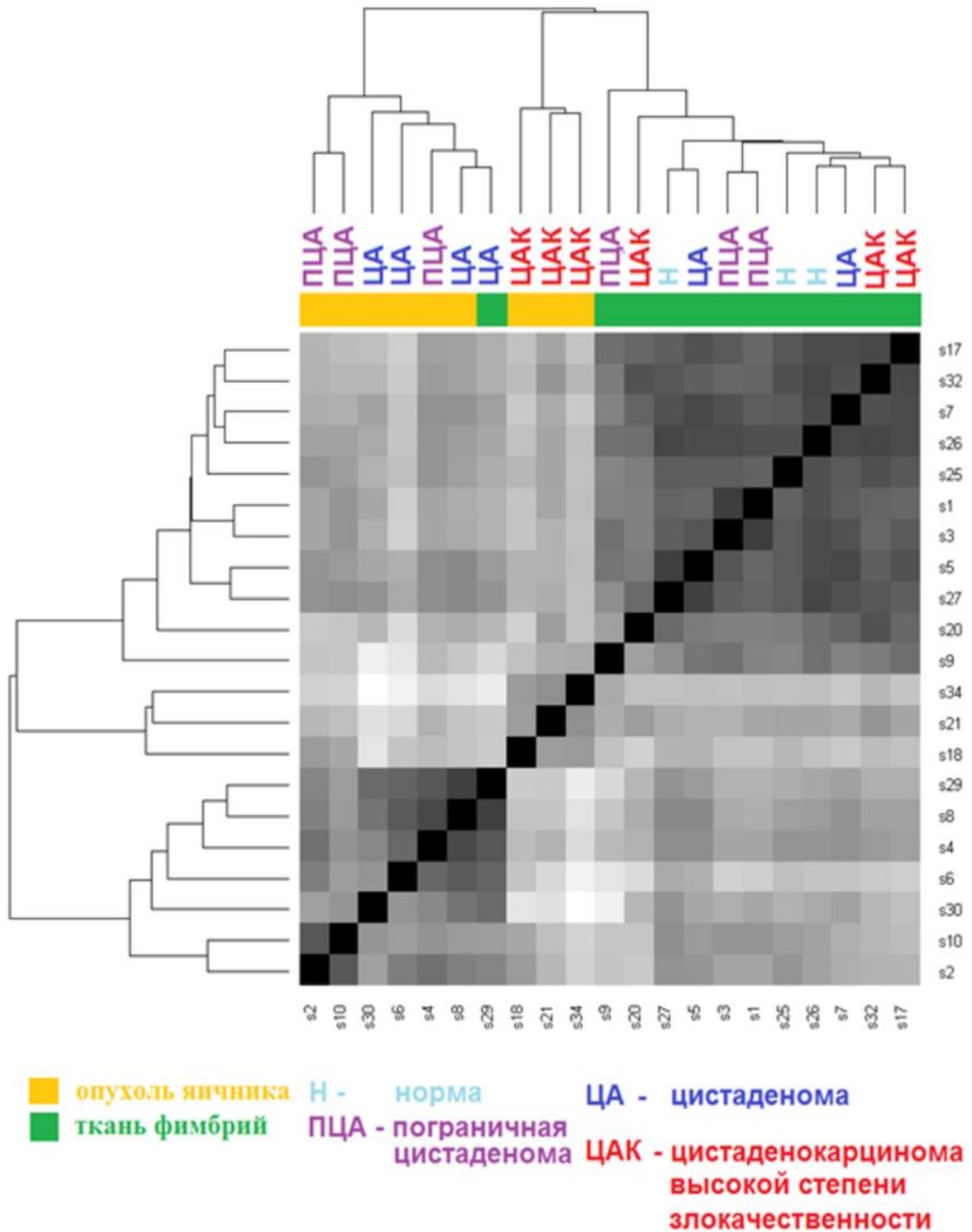


**Рисунок 82.** Экспрессия мкРНК в исследуемых образцах ткани в фимбриальном отделе маточных труб при серозных опухолях яичника



**Рисунок 83.** Экспрессия мкРНК в исследуемых образцах ткани в фимбриальном отделе маточных труб при серозных опухолях яичника по сравнению с тканью неизменной маточной трубы

Такую же кластеризацию демонстрирует и построенная на основании полученных результатов корреляционная матрица данных глубокого секвенирования (рис. 84).



**Рисунок 84.** Корреляционная матрица данных глубокого секвенирования образцов ткани серозных опухолей яичника и маточных труб

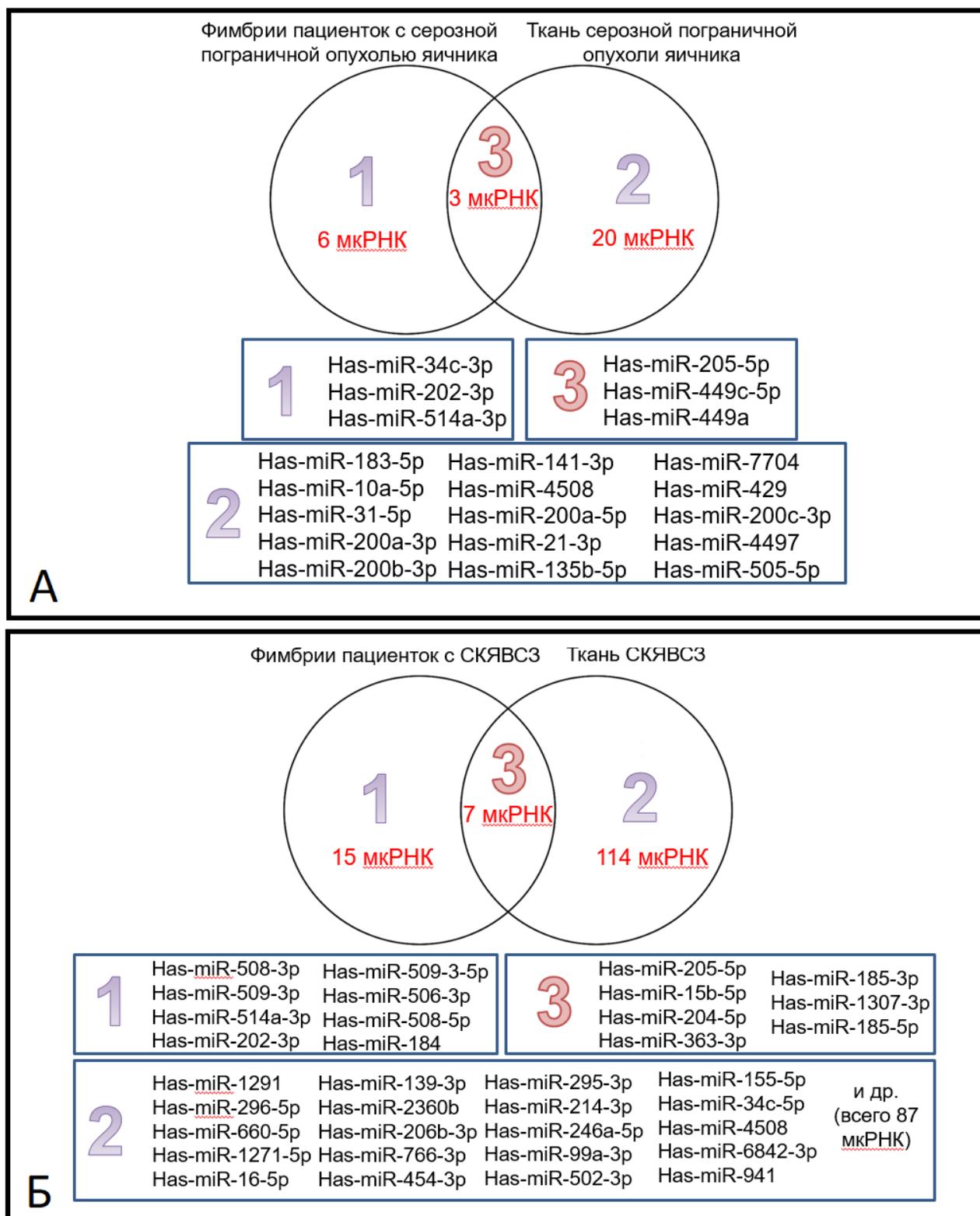
При анализе данной матрицы следует отметить, что образцы ткани серозной цистаденомы кластеризуются вместе с образцами серозной цистаденомы, в то время как все образцы HGSC кластеризованы в отдельную группу.

Это подтверждает предложенную модель морфогенеза, в соответствии с которой серозные пограничные опухоли являются следующей, после серозных цистаденом, ступенью поэтапного морфогенеза, в то время как HGSC развиваются из другого предшественника.

Образцы фимбриального отдела маточных труб пациенток с HGSC и серозными пограничными опухолями также кластеризованы в разные группы, однако, столь же «чистой» выборки, как при анализе данных образцов самих опухолей, мы не получили.

Это можно объяснить невозможностью точного взятия образца с предшественником HGSC (STIC), а также возможным развитием HGSC не только из STIC, локализованной в слизистой оболочке фимбриального отдела маточной трубы, но и из плюрипотентных клеток параовариальной и паратубарной областей, что нами было показано в соответствующем разделе исследования. При попарном сравнении профиля экспрессии мкРНК в маточной трубе и опухоли яичника, в частности, серозной пограничной цистаденомы и HGSC, выявлена общность изменений, происходящих на территории фимбриального отдела маточной трубы и опухоли яичника с дополнительными более выраженными изменениями экспрессии мкРНК в ткани самой опухоли (**рис. 85**).

Подтверждение полученных данных при анализе экспрессии мкРНК в исследуемых опухолях осуществлялось методом количественной ПЦР в реальном времени в образцах плазмы крови соответствующих пациенток. Определяли уровень экспрессии семи наиболее значимых по данным литературы и проведённого глубокого секвенирования мкРНК (hsa-miR-16-5p, hsa-miR-425-5p, hsa-miR17-5p, hsa-miR-20a-5p, hsa-miR-101-3p, hsa-miR-30d-5p и hsa-miR-93-5p).



**Рисунок 85.** Попарное сравнение профиля экспрессии мкРНК в маточной трубе и пограничной опухоли яичника (А) и в маточной трубе и HGSC (Б)

Для каждой анализируемой мкРНК в образце при помощи программного обеспечения прибора определялась величина порогового цикла (Ct), при котором значение флуоресценции реакционной смеси достигает «порогового» уровня (T), одинакового для данной мкРНК во всех сравниваемых образцах, включая стандартную ДНК. Исходную концентрацию кДНК (M0) в анализируемом образце вычисляли по уравнению калибровочной кривой:

$Lg(0) = a - b * Ct$ , где  $a = lg(T)$ ,  $b = lg(1 + Eff)$ , Eff – эффективность ПЦР. Коэффициенты a и b уравнения вычисляли при построении калибровочной кривой. Полученные результаты по концентрации кДНК каждой из исследуемых мкРНК (hsamiR-16-5p, hsa-miR-425-5p, hsa-miR-17-5p, hsa-miR-20a-5p, hsa-miR-101-3p, hsa-miR-30d5p, hsa-miR-93-5p) нормировали на концентрацию hsa-miR-140-3p. Анализ значимости различий относительного уровня экспрессии мкРНК в плазме крови в группах женщин с серозными опухолями яичников и пациенток с внеовариальной патологией (неизменным эпителием слизистой оболочки маточной трубы) выполняли с использованием двустороннего теста Вилкоксона-Манна-Уитни (табл. 11).

*Таблица 11. Различия относительного уровня экспрессии мкРНК в плазме крови пациенток с серозными опухолями и внеовариальной патологией.*

Название анализируемой мкРНК	Результат двустороннего теста Вилкоксона-Манна-Уитни, значение достоверности отличий с поправкой Бонферрони	
	Сравнение серозной пограничной опухоли с неизменным эпителием маточной трубы	Сравнение серозной карциномы высокой степени злокачественности с неизменным эпителием маточной трубы
miR-16-5p	0,00357	0,00001
miR-425-5p	0,00357	0,00007
miR-17-5p	0,00357	0,00001
miR-20a-5p	0,00357	0,00001
miR-101-3p	0,00357	0,00012
miR-30d-5p	0,29643	0,03023
miR-93-5p	0,00714	0,00012

При анализе профиля мкРНК образцов опухолевой ткани HGSC выявлено статистически значимое снижение в 8 раз уровня экспрессии мкРНК, мишенями которых является семейство ABC-транспортёров, играющих ключевую роль в развитии множественной лекарственной устойчивости опухоли, а именно miR-129-5p (ген-мишень MDR1).

Ранее было показано, что MiR-129 выступает в роли опухолевого супрессора при раке желудка [207], колоректальном раке [244] и гепатоцеллюлярном раке [438]. Именно miR-129-5p играет роль в развитии устойчивости HGSC к паклитакселу [279] и непосредственно ингибирует экспрессию YAP и TAZ, компонентов Hippo-сигнального пути, угнетая также пролиферацию клеток опухоли и снижая их выживаемость и онкогенный потенциал. Таким образом, угнетение miR-129-5p при HGSC имеет выраженную корреляцию с прогрессией опухолевого роста и снижением выживаемости пациенток [110].

Кроме того, в образцах HGSC отмечалась повышение в 4-5 раз уровня экспрессии miR-328-3p и miR-195-3p, регулирующих экспрессию ABCG2 и в 4-8 раз – понижение уровня экспрессии miR-199a-5p, miR-145-5p, miR-1345p, miR-1-3p, miR-1291, регулирующих MRP (ABCC1).

Известна важная роль данных генов (ABCC1 и ABCG2) в возникновении мультилекарственной химиорезистентности, в том числе, опосредованно через Hippo-сигнальный путь [166, 443].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что молекулярный портрет образцов ткани фимбриального отдела маточной трубы и образцов ткани серозных опухолей яичника позволяют отнести серозные цистаденомы и серозные пограничные опухоли в одну группу, а HGSC – в другую группу, отражая их различный морфогенез и клиническое течение.

Кроме того, значительное изменение экспрессии miR-129-5p, miR-328-3p, miR-195-3p, miR-199a-5p, miR-145-5p, miR-1345p, miR-1-3p и miR-1291 в HGSC позволяет объяснить некоторые механизмы развития

химиорезистентности данных опухолей, опухолевой прогрессии, метастазирования и эпителиально-мезенхимального перехода, а также рассматривать их в качестве мишеней для разработки таргетной терапии [223, 446].

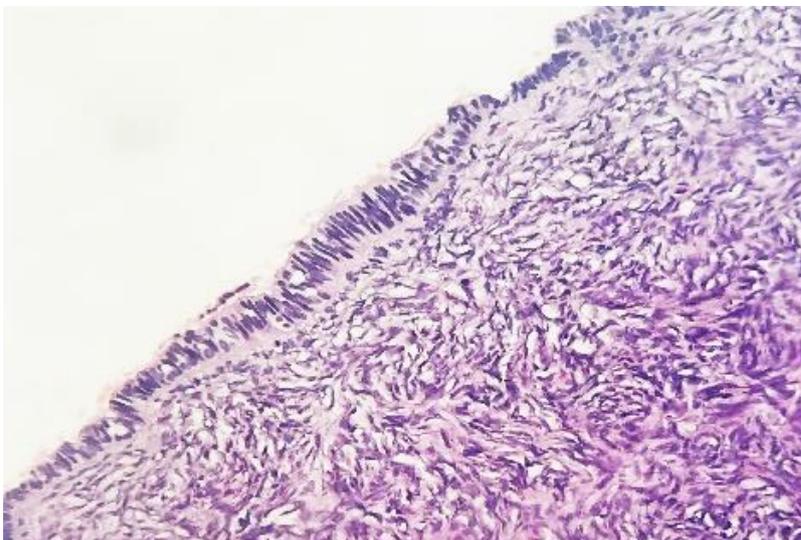
Эти данные позволяют нам сделать вывод об адекватных методах диагностики патологических изменений маточной трубы, которые, как было показано в нашем исследовании и в многочисленных зарубежных имеют ключевое значение в развитии HGSC. Кроме того, данные об экспрессии мкРНК и построенная на основании данных глубокого секвенирования корреляционная матрица демонстрирует, что образцы ткани серозной цистаденомы кластеризуются вместе с образцами серозной цистаденомы, в то время как все образцы HGSC – в отдельную группу (общность экспрессии мкРНК между серозной цистаденомой и серозной пограничной опухолью составила 24,2%, между серозной пограничной опухолью и HGSC – 6,3%), что отражает их различный морфогенез и клиническое течение.

Однако эпидемиологические, экспериментальные и клинические данные показывают, что слизистая оболочка маточной трубы является ведущим, но не единственным источником развития HGSC. В связи с этим, нами была подробно исследована парафимбриальная и параовариальная переходные области, так как в литературе имеются данные свидетельствующие о возможной аналогии данных областей с другими переходными областями, в которых имеет место соприкосновение двух типов эпителия и которые являются «горячими точками» карциногенеза в шейке матки, пищеводе, роговице, анальном канале и др. Данная точка зрения нуждалась в получении фактических данных о морфологии переходных областей в придатках матки, содержании в них повышенной концентрации прогениторных клеток как потенциальных источников клонального поражения при закреплении в них опухолевых мутаций, а также топического взаиморасположения данных переходных областей и STIC. Полученные данные приведены в следующем разделе.

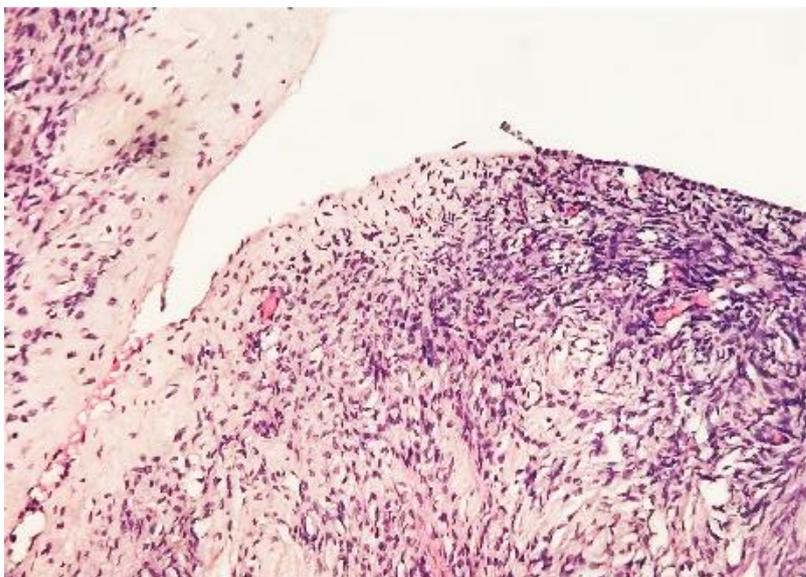
### 3.6. Морфологические и иммуногистохимические особенности клеточного состава параовариальной и парафимбриальной переходных зон

В нашей работе применялся особый метод взятия материала, предполагающий исследование фимбрий маточной трубы вместе с прилежащей частью ее ампулярного отдела, а также взятие фимбриального отдела вместе с корковым веществом яичника и прилежащим мезотелием, там, где это было возможно. Такой алгоритм позволяет наилучшим образом визуализировать переходные зоны и выявить их в большем проценте случаев, чем при использовании SEE-FIM протокола. Однако, даже с применением данного метода переходные зоны оказалось возможно оценить лишь в 40-70%. ПЭЯ визуализировалась в 55% взятых для исследования образцов, параовариальная зона – в 40%, ПЭЯ был представлен кубическим эпителием, в 20% случаев с включением эпителия типа эндосальпинкса. С подобной проблемой исследователи сталкивались и ранее, в основном из-за стандартного протокола взятия материала [410].

Параовариальная зона представляет собой переход соединительнотканной стромы собственной связки яичника в корковое вещество яичника, при этом, поверхностный кубический эпителий визуализируется как в области мезотелия, так и в области ПЭЯ (рис. 86-87).



**Рисунок 86.** Участок параовариальной зоны с эпителием типа слизистой оболочки маточной трубы на поверхности яичника, х400. Окраска гематоксилином и эозином



**Рисунок 87.** Участок перехода соединительнотканной стромы в корковое вещество яичника, х400. Окраска гематоксилином и эозином

В парафимбриальной зоне отмечался переход мезотелия, покрывающего серозную оболочку маточной трубы в слизистую оболочку фимбрий.

В 40,6% парафимбриальная переходная зона содержала и слизистую оболочку складки фимбрии, в 59,4% располагалась вне складки. Из тех участков, которые были локализованы на складке, 43,6% располагались на её вершине, 25,6% – на боковой поверхности, 30,8% – в основании складки или в области между складками.

В гистологических препаратах контур переходной зоны чаще был плоским (**рис. 88**), иногда имел выпуклую форму, располагался на вершине складки фимбрии или у ее основания (в меньшем числе случаев) (**рис. 89**).

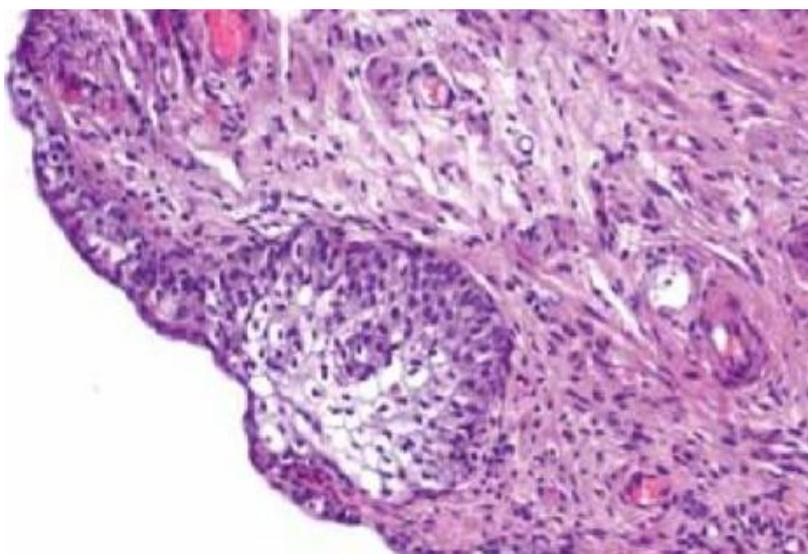
В парафимбриальной зоне наблюдали переходноклеточную метаплазию (в 33%) (**рис. 90**), а также скопление клеток уротелиального типа (в 25%).



**Рисунок 88.** Участок перехода мезотелия в эпителий фимбрий (плоская переходная зона) – отмечена стрелкой, х400. Окраска гематоксилином и эозином



**Рисунок 89.** Участок перехода мезотелия в эпителий фимбрий (переходная зона у основания фимбрии), указана стрелкой, х400. Окраска гематоксилином и эозином



**Рисунок 90.** Переходный эпителий в виде гнезда Вальтхарда, х400. Окраска гематоксилином и эозином

В большинстве участков было отмечено расширение кровеносных и лимфатических (**рис. 88**) сосудов, притом последние нередко прилегали к базальной мембране слизистой оболочки фимбрий.

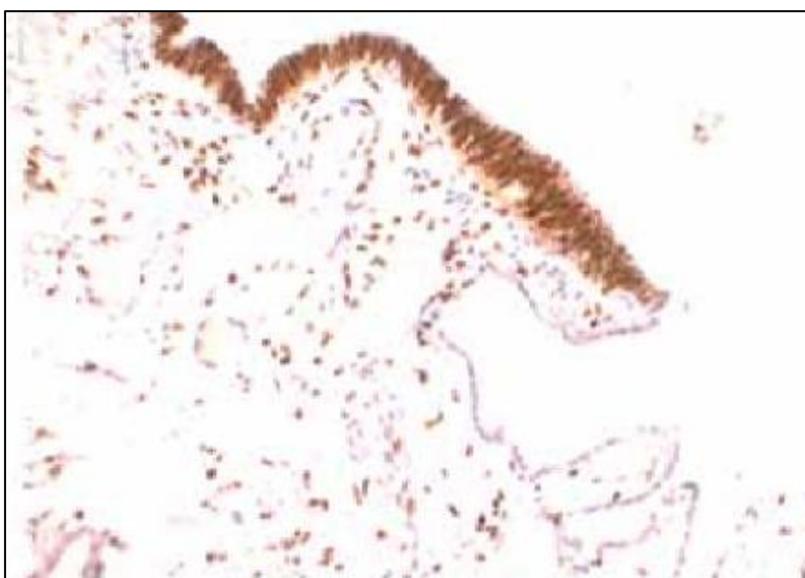
Результаты, близкие к нашим, были получены и другими исследователями [287, 430]. С учетом небольшого объема ткани, доступной для исследования в каждом случае (из-за анатомически сложной, нелинейной архитектоники фимбриального отдела), можно предположить, что реальный процент встречаемости переходноклеточной метаплазии гораздо выше и ее, скорее всего, можно отнести к нормальному фенотипу парафимбриальной зоны по аналогии с плоскоклеточной метаплазией в переходной зоне между эндоцервикальным и плоским эпителием в шейке матки.

«Яичниковая» строма в области фимбриального отдела была выявлена у 2% пациенток непосредственно в парафимбриальной зоне, еще в 20% – в других отделах собственной пластинки слизистой оболочки маточной трубы.

Для демонстрации разного иммунофенотипа клеток цилиндрического эпителия маточной трубы и мезотелия ее серозной оболочки были выполнены ИГХ-исследования с прогестероновыми рецепторами и *calretinin*. Интенсивная экспрессия прогестероновых рецепторов отмечалась в ядрах клеток цилиндрического эпителия (**рис. 91**) и отсутствовала в ядрах клеток мезотелия, экспрессия *calretinin* была позитивной в ядрах клеток мезотелия (**рис. 92**) и негативной в ядрах клеток цилиндрического эпителия.



**Рисунок 91.**  
Иммуногистохимическое исследование парафимбриальной переходной зоны: экспрессия калретинина в клетках мезотелия, х 400



**Рисунок 92.**  
Иммуногистохимическое исследование парафимбриальной переходной зоны: экспрессия прогестероновых рецепторов, х400

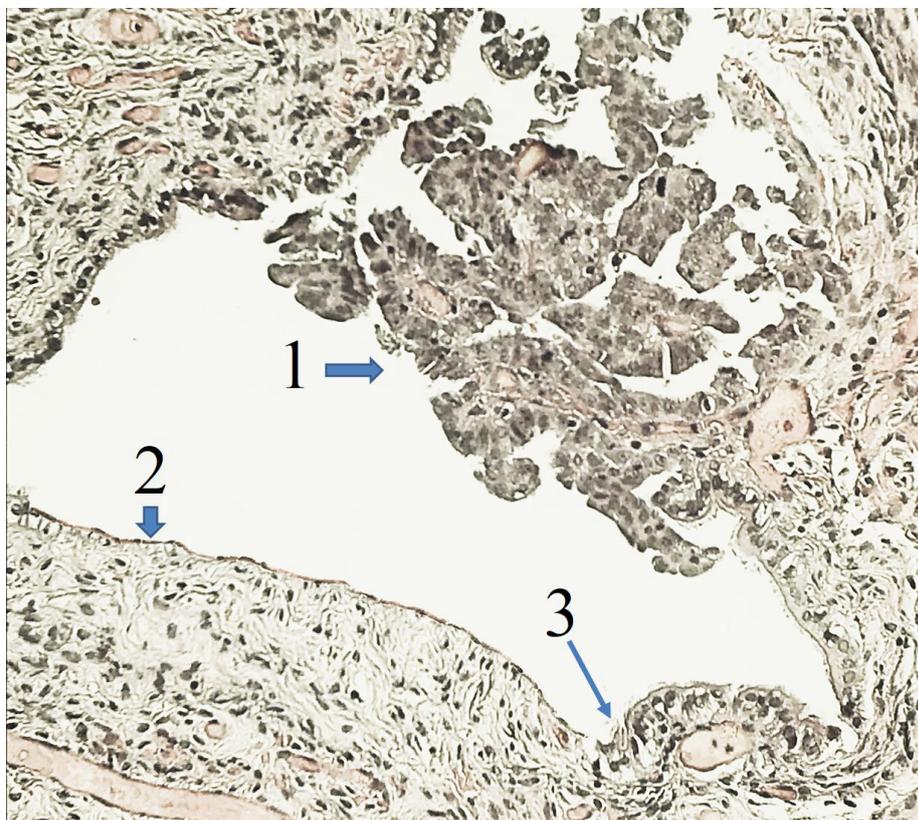
При исследовании точной локализации STIC (по отношению к парафимбриальной зоне) было выявлено, что в 53,3% STIC была выявлена в непосредственной близости к переходу мезотелия в эпителий слизистой оболочки фимбрий (не далее 2 мм), еще в 33,3% – в области фимбриального отдела, но не в непосредственной близости от переходной зоны, в 13,4% STIC локализовалась за пределами фимбриального отдела.

Различия в выявляемости STIC в области фимбрий (86,9%) и вне фимбриального отдела (13,4%) были статистически значимыми ( $p < 0,05$ ).

В нашем исследовании, а также в ряде зарубежных [113, 236, 373, 374, 376] были получены результаты, согласно которым в большинстве случаев

STIC была выявлена в непосредственной близости от парафимбриальной зоны.

Кроме того, STIC выявлены только при серозных карциномах яичников [204, 289], что согласуется с проведенным нами исследованием (рис. 93).

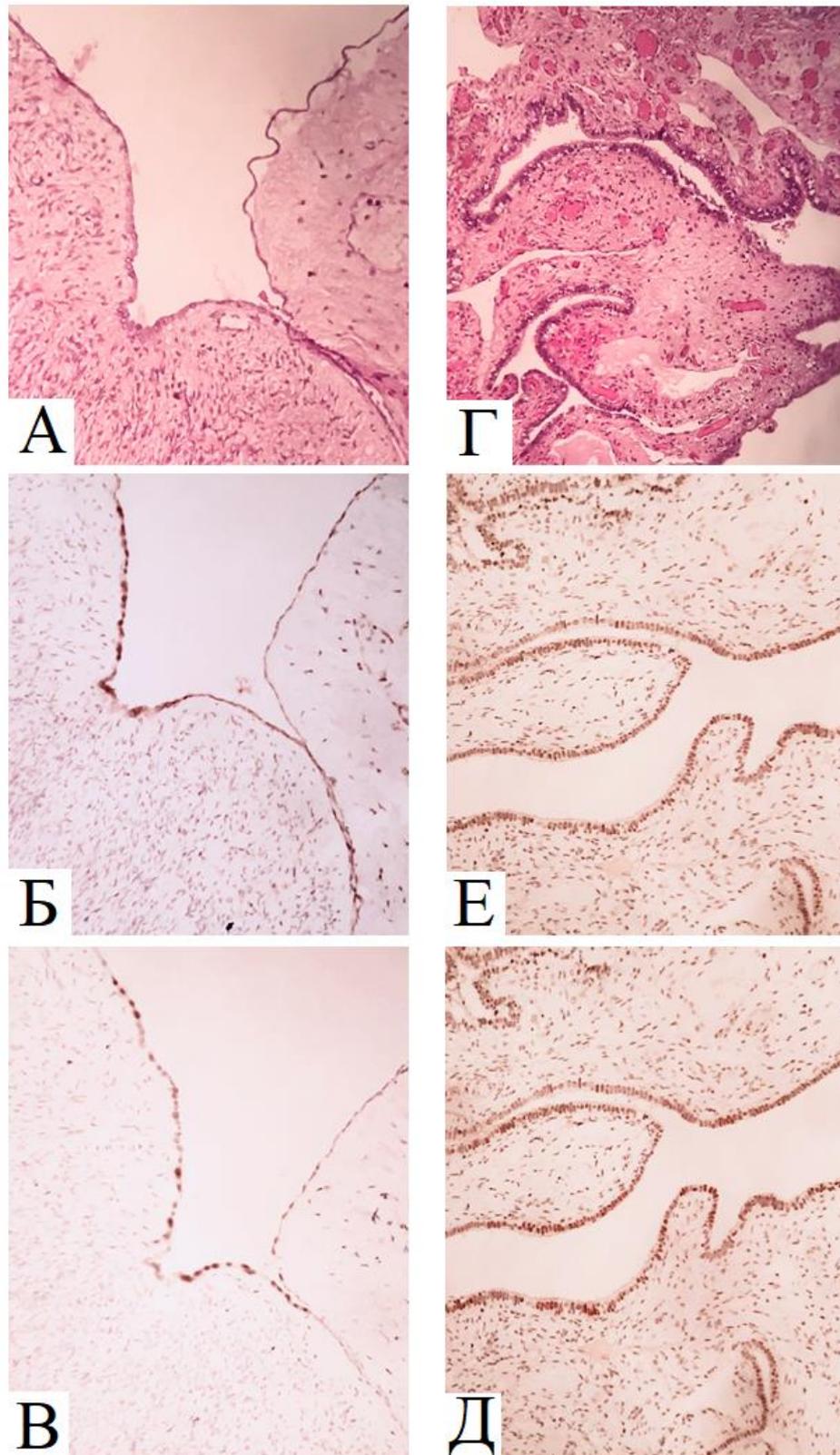


**Рисунок 93.** Расположение STIC в непосредственной близости от парафимбриальной переходной области. 1 – STIC, 2 – мезотелий, 3 – место соприкосновения двух типов эпителия, х 100, окраска гематоксилином и эозином.

Для молекулярного изучения парафимбриальной и параовариальной переходных зоны нами была изучена экспрессия маркеров прогениторных клеток в данной анатомической области с целью рассмотрения трубно-овариальной области как имеющей общее происхождение из единой зоны целомического эпителия [121]. Данные об экспрессии маркеров прогениторных клеток в овариально-фимбриальной области представлены в табл. 12 и на рис. 94.

Таблица 12. Количество образцов ткани, в которых наблюдали экспрессию ИГХ-маркеров (позитивная/негативная) и показатели экспрессии последних, в баллах

Маркеры прогениторных клеток	Участки взятого образца ткани				Уровень значимости p
	Слизистая оболочка фимбрий N=55	Пара-фимбриальная зона N=25	Пара-Овариальная N=25	ПЭЯ N=35	
	1	2	3	4	
LGR5	38/17	22/3	21/4	32/3	p <sub>1-4</sub> , p <sub>1-3</sub> < 0.05
	3.8±0.2	4.2±1.5	4.3±0.5	4.0±0.1	
NANOG	25/30	20/5	24/1	35/0	p <sub>1-4</sub> , p <sub>2-4</sub> , p <sub>3-4</sub> , p <sub>2-3</sub> < 0.05
	4.1±1.5	4.5±0.1	5.2±2.5	3.9±0.1	
LHN9	27/28	19/6	19/6	25/10	p <sub>1-3</sub> , p <sub>3-4</sub> , < 0.05
	3.2±0.1	3.6±2.0	4.1±0.2	3.5±1.1	
CD117	30/25	10/15	15/10	11/24	p > 0,05
	1.9±0.7	2.2±0.3	2.2±0.3	2.1±0.5	
CD44	55/0	55/0	12/13	5/30	p <sub>1-4</sub> , p <sub>1-2</sub> , p <sub>2-4</sub> < 0.05
	5.5±0.2	5.2±0.2	4.5±2.7	3.8±1.5	
oct4	40/15	21/4	21/4	29/6	p > 0,05
	4.1±1.6	4.6±2.2	4.5±2.1	4.2±1.1	



**Рисунок 94.** А-В. Параовариальная область: переход ПЭЯ в мезотелий у пациентки с внеовариальной патологией (лейомиома тела матки), х 400 (А. Окраска гематоксилином и эозином, Экспрессия LGR 5, В. Экспрессия NANOG. Г-Д. Парафимбриальная область: переход мезотелия в слизистую оболочку маточной трубы. Г. Окраска гематоксилином и эозином. Д. Экспрессия LGR5. Экспрессия NANOG.

В ткани HGSC экспрессия маркеров прогениторных клеток была позитивной во всех образцах, при этом статистически значимые различия в экспрессии наблюдались между всеми участками овариально-фимбриальной области и тканью опухоли.

Экспрессия LGR5 в ткани HGSC составила  $5.8 \pm 0.5$  баллов, NANOG -  $5.8 \pm 0.8$ , LHN9 -  $4.3 \pm 0.8$ , CD117 -  $4.9 \pm 0.9$ , CD44 -  $5.8 \pm 1.2$ , Oct4 -  $5.8 \pm 0.3$  баллов ( $p < 0,05$ ).

Как известно, соотношение секреторных и реснитчатых клеток значительно отличается в фимбриальном и других отделах маточной трубы, некоторые из преобладающих в фимбриях секреторные клетки являются недостаточно детерминированными [370, 397].

Результаты нашего исследования экспрессии комплекса маркеров прогениторных клеток, а также данные литературы [191, 262, 268] и послужили основой для определения наиболее важных компонентов регулирующих сигнальных путей плюрипотентности клеток.

Среди наиболее значимых маркеров прогениторных клеток выделяют транскрипционный фактор NANOG и сопряжённый с G-белком рецептор, содержащий богатые лейцином повторы LGR5, которые рассматривают в качестве важных факторов поддержания плюрипотентности клеток [206, 220]. При этом следует отметить, что факторы роста клеток R-спондины (Rspo) активируют сигнальный путь Wnt через рецепторы, содержащие обогащенные лейцином повторы, сопряженные с белком G, в первую очередь, LGR5 [365]. Активация сигнального пути Wnt пути с помощью LGR5 неразрывно связана и с активацией  $\beta$ -catenin, который оказывает подобное действие на NANOG [319, 389]. Последний участвует в сигнальном пути опухолевого супрессора p53, который связывается с промотором гена NANOG и способствует супрессорному воздействию на него после повреждения ДНК стволовых клеток.

Известно, что мутация гена *TP53* является одним из ключевых звеньев в морфогенезе HGSC. Согласно нашим данным, экспрессия NANOG

наблюдалась как в ядре, так и в цитоплазме реснитчатых и секреторных клеток слизистой оболочки маточной трубы, однако наиболее интенсивной была окраска ядер во вставочных клетках (peg cells). В отношении вставочных клеток не исключают, что они представляют собой предшественники секреторных клеток, не имеющие терминальной дифференцировки [397].

В то же время N. Auersperg, отмечая преимущественную экспрессию NANOG в реснитчатых клетках, не объясняет этого в связи с тем, что не вызывает сомнения их окончательная дифференцировка [122].

Регуляция экспрессии NANOG осуществляется также посредством факторов SOX2 и Oct4. Oct4 – транскрипционный фактор, содержащий гомеобокс, из семейства POU. Данный протеин участвует в самообновлении недифференцированных эмбриональных стволовых клеток и широко используется как маркер для недифференцированных клеток. Как видно из рисунка 4, Oct4 является необходимым фактором для экспрессии NANOG, поддерживая плюрипотентность клеток, и имеет важное значение в регуляции клеточного цикла. В настоящее время доступно не так много данных литературы об экспрессии Oct4 в неизменном эпителии слизистой оболочки маточной трубы, ПЭЯ и при HGSC.

Ранее данный маркер использовали для верификации популяции стволовых клеток при моделировании клеточных линий рака яичников [332].

Увеличение экспрессии Oct4 наблюдалось при сравнении неизменного ПЭЯ/эпителия слизистой оболочки маточной трубы с доброкачественными/пограничными серозным опухолям яичника и при сравнении последних с HGSC [321].

Впервые значение Oct4 в генезе HGSC была установлена после выделения единственного туморогенного клона из асцитической жидкости пациентки [120, 396]. Дальнейшие исследования с использованием *in vivo* и *in vitro* моделей рака яичников показали ключевую роль данного протеина в выживаемости опухолевых клеток, их метастазировании и химиорезистентности [120]. Воздействие Oct4 опосредованы и через Рецептор

фактора роста тучных и стволовых клеток CD117 и интегральный клеточный гликопротеин CD44: активация CD117 и CD44 стимулирует экспрессию Akt, который, в свою очередь, фосфорилирует и активирует Oct4 [264].

В нашем исследовании экспрессия CD117 была самой низкой среди всех исследованных маркеров, большинство образцов ткани содержали менее 25% позитивно окрашенных клеток.

В проведенных ранее исследованиях были получены результаты, свидетельствующие как о положительной, так и об отрицательной экспрессии CD117 в эпителии маточной трубы и ПЭЯ, однако, в публикациях не указывается количественное содержание клеток с данным маркером или отмечают, что его экспрессия отмечалась в тучных клетках и/или телоцитах, а не в эпителиоцитах [192, 243, 321]. В одном исследовании экспрессия CD117 была значительно выше в предраковых и злокачественных овариальных новообразованиях, в связи чем не предполагается возможность участия данного протеина в карциногенезе [315].

Экспрессия CD44 в клетках эпителия маточной трубы представлена в работе по изучению фенотипа эпителиоцитов в работе D. Paik et al. [397].

Исследователи отмечают, что экспрессия CD44 во вставочных клетках косвенно свидетельствует об их прогениторной роли. Единичные клетки, позитивные в отношении CD44, были выявлены и в неизменном ПЭЯ [139], что согласуется с нашими данными. В HGSC, так же, как в отношении CD177, экспрессия CD44 была значительно выше, чем в неизменном эпителии [359].

Наименее изученным маркером, из включенных в наше исследование, остается LHX9. Данный фактор является транскрипционным и определяет региональную и клеточную идентичность клеток на ранних этапах эмбриогенеза. Кроме того, данный фактор обладает способностью поддерживать плюрипотентность клеток во взрослом организме [411] и является регулятором Wnt/ $\beta$ -catenin – сигнального пути, в котором, как было представлено выше, также участвуют другие изученные нами протеины [198].

Экспрессия LHX9 отмечалась во всех участках овариально-фимбриальной области придатков матки, как и в отношении LGR5 и NANOG.

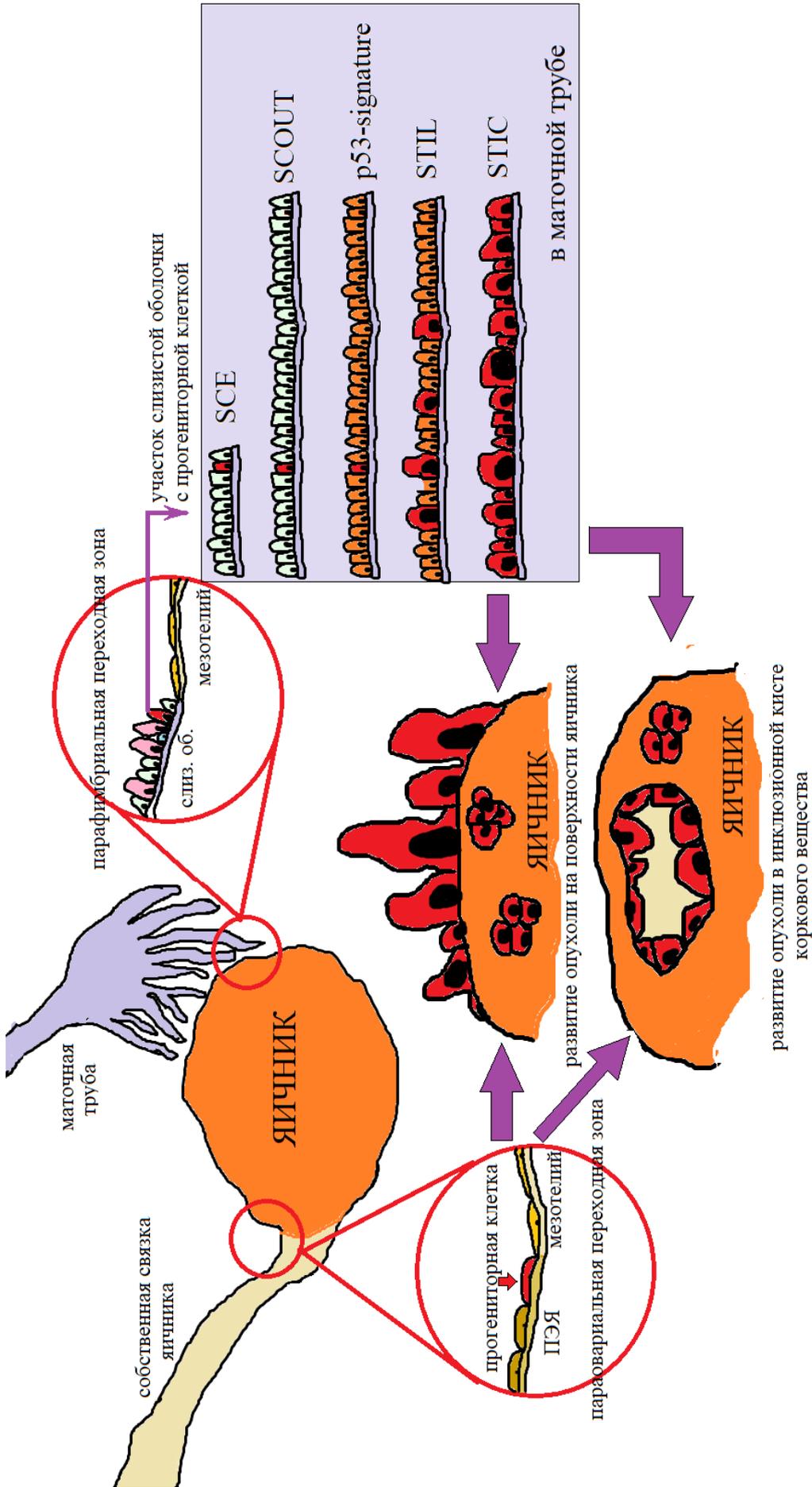
Следует отметить, что в отличие от маркеров LGR 5, CD44, CD117 и Oct4 значительного повышения экспрессии LHX9 в HGSC мы не наблюдали что, возможно, указывает на отсутствие существенного значения его в поддержании плюрипотентности клеток, а также на то, что нарушение экспрессии соответствующего гена не является драйверным для развития HGSC. Схожие результаты в отношении экспрессии этих маркеров при раке яичников были получены и в других исследованиях [115, 139, 332].

Таким образом, в эпителии овариально-фимбриальной области придатков матки отмечается экспрессия прогениторных клеток. Возможно, изменение регуляции сигнальных путей, ключевыми звеньями которых являются LGR5, NANOG, CD44, CD117 и Oct4, имеет наиболее важное значение на начальных этапах неопластической трансформации эпителиальных клеток при развитии HGSC.

Известно, что морфогенез серозных карцином яичника и в настоящее время все еще остается дискуссионным, не исключается и возможность существования сразу нескольких источников происхождения опухолей, имеющих идентичный фено-, иммуно- и генотип. Разработка биологических моделей, а также экспериментальные данные, полученные на клеточных линиях, позволили продемонстрировать возможность развития таких идентичных опухолей (HGSC) как из клеток ПЭЯ, так и из клеток слизистой оболочки фимбриального отдела маточной трубы.

Повышенное содержание клеток с прогениторными свойствами в эпителии параовариальной и парафимбриальной зонах свидетельствует о том, что недостаточно детерминированные клетки этих участков могут с одной стороны, приобретать фенотип как ПЭЯ, так и слизистой оболочки маточной трубы, с другой – являются наиболее восприимчивыми к мутагенным воздействиям агрессивных биологически активных молекул. Другими словами, достоверно более высокие показатели экспрессии плюрипотентных

клеток в эпителии параовариальной и парафимбриальной зон по сравнению с ПЭЯ и слизистой оболочкой фимбрий маточной трубы указывает на возможность развития опухолевого процесса из прогениторных клеток расположенных как в парафимбриальной, так и в параовариальной переходных зонах (**рис 95**).



**Рисунок 95.** Схематическое представление морфогенеза серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности из прогениторных клеток-предшественников парафимбриальной и параовариальной переходных зон.

## Заключение

Полученные на большой выборке собственных результатов, а также данные литературы позволяют заключить, что в морфогенезе серозных опухолей следует выделять два пути: по одному из них идет развитие серозных доброкачественных и пограничных опухолей яичника, по другому – серозных карцином высокой степени злокачественности. Патологические изменения слизистой оболочки маточной трубы имеют ключевое значение для развития всех серозных опухолей, однако эти нарушения принципиально различаются между собой. Серозные пограничные опухоли морфогенетически связаны с гиперпластическими изменениями эндосальпинкса, характеризующимися нарушением гистоархитектоники слизистой оболочки маточной трубы: плотным расположением складок эндосальпинкса, наличием папиллярных выростов и мелких папиллярных структур, псаммомных телец. При серозных карциномах яичника высокой степени злокачественности выявляют интраэпителиальные изменения слизистой оболочки маточной трубы. Так, изменяется соотношение реснитчатых и секреторных клеток с преобладанием последних (на этапе развития SCE и SCOUT), появляются иммунофенотипические перестройки (отсутствие экспрессии PAX2, выраженная экспрессия p53 и др.) и фенотипические изменения (полиморфизм эпителиоцитов, высокая митотическая активность, потеря полярности клеток и др. на этапе развития STIC). Различный профиль мкРНК, характерный для ткани маточной трубы при серозных доброкачественных/пограничных опухолях и HGSC подтверждает эту концепцию. Полученные данные о гистологических, цитологических и молекулярных особенностях патологических изменений слизистой оболочки маточной трубы позволяют обосновать применение неинвазивных и малоинвазивных методов для ранней диагностики предраковых поражений слизистой оболочки маточной трубы. Кроме того, предложенная нами формула, включающая количество участков, высланных только секреторными клетками и возраста пациенток, позволяет

использовать эти морфометрические данные при исследовании удалённой маточной трубы в качестве прогностического инструмента и обосновывает эффективность детального исследования маточной трубы при оппортунистической сальпингэктомии.

Особое внимание в изучении морфогенеза серозных опухолей в данной работе уделено овариально-фимбриальной области, содержащей клетки с прогениторными свойствами, накопление мутаций в которых способствует развитию клонального неопластического поражения. Мы показали, что в слизистой оболочке фимбрий вблизи перехода слизистой оболочки маточной трубы в покрывающей ее мезотелий содержатся прогениторные клетки с экспрессией LGR5, NANOG, Oct 4, Cd44, LNX9, именно в этой области чаще локализуются интраэпителиальные предраковые поражения. Полученные нами результаты свидетельствуют о плюрипотентности клеток поверхностного эпителия яичника, особенно в области его перехода в мезотелий и слизистую оболочку фимбрий, что также подтверждает особое значение овариально-фимбриальной области в развитии серозных карцином яичника. При этом количество плюрипотентных клеток в области соприкосновения одного типа эпителия с другим достоверно выше, чем за пределами этих участков. Таким образом, можно заключить, что развитие серозных карцином высокой степени злокачественности начинается с возникновение мутаций в прогениторных клетках овариально-фимбриальной области. Если прогениторные клетки-предшественники, локализуются в парафимбриальной переходной зоне, то опухолевый процесс реализуется через образование интраэпителиальных поражений в слизистой оболочке маточной трубы с последующим распространением на поверхность яичника. Если прогениторные клетки-предшественники локализуются в параовариальной переходной зоне, то они являются источником предопухолевых поражений на поверхности яичника или в инклюзионных кистах коркового вещества.

## ВЫВОДЫ

1. На основании морфологических и иммуногистохимических особенностей выделены два типа патологических процессов в слизистой оболочке маточной трубы: гиперпластические изменения эндосальпинкса, затрагивающие только гистоархитектонику складок фимбрий, и интраэпителиальные поражения слизистой оболочки маточной трубы. Последние, в свою очередь, подразделяются на поражения без фенотипических изменений эпителиоцитов (с наличием участков, выстланных только секреторными клетками), и поражения с фенотипическими изменениями эпителиоцитов (характерными для серозной интраэпителиальной карциномы слизистой оболочки маточной трубы).
2. Интраэпителиальные поражения без фенотипических изменений эпителиоцитов иммунофенотипически характеризуются снижением экспрессии PAX2, усилением экспрессии Vcl-2 и  $\beta$ -catenin, а интраэпителиальные поражения с фенотипическими изменениями эпителиоцитов – усилением экспрессии p53, Ki-67, p16, stathmin1, laminin-gamma 1.
3. Частота предопухолевых патологических процессов в слизистой оболочке маточной трубы выше при серозных опухолях яичника вне зависимости от степени их злокачественности ( $p < 0,05$ ). Гиперпластические изменения эндосальпинкса достоверно чаще встречаются при серозных пограничных опухолях, а интраэпителиальные карциномы маточной трубы – при серозных карциномах высокой степени злокачественности ( $p < 0,05$ ), что позволяет предположить их морфогенетическую связь при сходных морфологических, иммуногисто-, цитохимических и молекулярных особенностях.
4. Для морфологической диагностики гиперпластических изменений эндосальпинкса и интраэпителиальных поражений без фенотипического изменения эпителиоцитов достаточно применения светового

микроскопического исследования, при котором показатель воспроизводимости для данных патологических процессов составляет от 0,67 до 0,73. При дополнительном применении иммуногистохимических маркеров – белков p53, Ki-67, PAX-2, Vcl-2,  $\beta$ -catenin – показатель воспроизводимости существенно не изменяется ( $p>0,05$ ).

5. По сравнению со световым микроскопическим исследованием применение панели иммуногистохимических маркеров p53, Ki-67, p16, laminin-gamma1, stathmin1 достоверно увеличивает показатель воспроизводимости диагноза для интраэпителиальной карциномы маточной трубы ( $p<0,05$ ). При трудности интерпретации экспрессии белка p53 уровень воспроизводимости  $>0,7$  для интраэпителиальной карциномы маточной трубы может быть достигнут только при применении расширенной панели p16/laminin-gamma1/stathmin1.
6. В овариально-фимбриальной области придатков матки количество прогениторных клеток выше, чем за их пределами, что, в сочетании с достоверно более частой локализацией интраэпителиальной карциномы маточной трубы в парафимбриальной зоне (62%) дает основание рассматривать данную область в качестве источника происхождения серозной карциномы высокой степени злокачественности.
7. Построенная на основании данных глубокого секвенирования корреляционная матрица экспрессии мкРНК демонстрирует, что образцы ткани серозной цистаденомы кластеризуются вместе с образцами серозной цистаденомы, в то время как образцы серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности – в отдельную группу. Общность экспрессии мкРНК между серозной цистаденомой и серозной пограничной опухолью составляет 24,2%, а между серозной пограничной опухолью и серозной карциномой яичника высокой степени злокачественности – 6,3%, что отражает их различный морфогенез.
8. Обоснованы два пути морфогенеза серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности. Прогениторные клетки-предшественники,

локализующиеся в парафимбриальной переходной зоны маточных труб, реализуют опухолевый процесс через образование интраэпителиальных поражений в слизистой оболочке с последующим распространением на поверхность яичника. Прогениторные клетки-предшественники, локализующиеся в параовариальной переходной зоне, являются источником предопухолевых поражений на поверхности яичника или в инклюзионных кистах его коркового вещества.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ГИЭ – гиперпластические изменения эндосальпинкса

ИГХ – иммуногистохимический

ПЭЯ – поверхностный эпителий яичника

HGSC – high grade serous carcinoma, серозная карцинома высокой степени злокачественности

LGSC – low grade serous carcinoma, серозная карцинома низкой степени злокачественности

Bcl-2 – B-cell lymphoma 2

ER alpha – estrogen receptor alpha

LGR5 – Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5

LHX9 – LIM homeobox 9

NANOG – North American Network Operator'S Group

Oct4 – Octamer-4

PAX 8 (2) – Paired box gene 8 (2)

SCE – secretory cells expansion, участок слизистой оболочки, выстланный только секреторными клетками (не менее 10)

SCOUT – secretory cells outgrowth, участок слизистой оболочки, выстланный только секреторными клетками (не менее 30)

STIC – serous tubal intraepithelial carcinoma, серозная интраэпителиальная карцинома слизистой оболочки маточной трубы

STIL – serous tubal intraepithelial lesion, серозное интраэпителиальное поражение слизистой оболочки маточной трубы

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Ашрафян, Л.А. Современные возможности профилактики и ранней диагностики предрака и рака репродуктивных органов / Л. А. Ашрафян, В. И. Киселев. – Текст: непосредственный // *Акушерство и гинекология*. – 2009. – №4. – С.24-29.
2. Батталова, Г.Ю. Отдаленные результаты органосохраняющих операций пограничных опухолей яичников у женщин детородного возраста / Г.Ю. Батталова. – Текст: непосредственный // *Акушерство и гинекология*. – 2005. – №2. – С.57-60.
3. Батталова, Г.Ю. Современные представления о пограничных опухолях яичников / Г.Ю. Батталова, Е.Г. Новикова. – Текст: непосредственный // *Вопр. онкологии*. – 2005. – Т.51,№2. – С.173-181.
4. Бахидзе, Е.В. Значение методов исследований генома для диагностики и терапии рака яичника / Е.В. Бахидзе, А.В. Малек. – Текст: непосредственный // *Вопр. онкологии*. – 2005. – Т.51,№1. – С.50-55.
5. Белоглазова, С.Е. Хирургическое лечение образований яичников лапароскопическим доступом / С.Е. Белоглазова, З.Р. Зурабиани, С.Ш. Джабраилова. – Текст: непосредственный // *Акушерство и гинекология*. – 1995. – №5. – С.7-9.
6. Буланов, М.Н. Допплерографическая диагностика рака яичников.1. Качественные и количественные критерии / М.Н. Буланов, Б.И. Зыкин, Т.И. Новикова. – Текст: непосредственный // *Ультразвуковая диагностика в акушерстве, гинекологии и педиатрии*. – 2000. – Т.8,№1. – С.67-72.
7. Бургер, Г. (Burger H.G.) Ингибин и рак яичников / H.G. Burger. – Текст: непосредственный // *Вопр. онкологии*. – 1999. – Т.45,№4. – С.369-373.
8. Варианты анатомического строения яичниковых вен / С.Г. Гаврилов, А.И. Кириенко, О.Д. Мишнев, М.А. Черкашин. – Текст: непосредственный // *Анналы хирургии*. – 2004. – №3. – С.72-75.

9. Виноградов, И.И. Значение маркеров пролиферации и апоптоза для пограничных опухолей яичника / И.И. Виноградов, Ю.Ю. Андреева, Л.Э. Завалишина. – Текст: непосредственный // Инновационные подходы к диагностике и лечению онкологических заболеваний: межрегион. сб. науч. тр., посвящ. 70-летию ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России / под ред. Е.П. Куликова; РязГМУ. – Рязань, 2013. – С. 48-50.
10. Возможности и пределы органосохраняющего лечения раннего рака яичников / Е.В. Бахидзе, Е.И. Гуло, С.Я. Максимов [и др.]. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 1999. – Т.45, №6. – С.674-679.
11. Возможности неинвазивных методов диагностики в определении структуры опухолей и опухолевидных образований яичников во время беременности / Д. А.Ю. Мартынов, С.А. Адамян, Л.В. Липатенкова [и др.]. – Текст: непосредственный // Гинекология. – 2014. – №. 6. – С. 44–48.
12. Возрастные особенности заболеваемости, смертности, морфологической верификации злокачественных новообразований яичников / В.М. Мерабишвили, Е.М. Богданова, А.Ф. Урманчеева [и др.]. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2010. – Т.56, №2. – С. 144-151.
13. Возрастные особенности наблюдаемой и относительной выживаемости больных со злокачественными новообразованиями яичника в Санкт-Петербурге / В.М. Мерабишвили, Е.М. Богданова, А.Ф. Урманчеева [и др.]. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2010. – Т.56, №3. – С. 283-292.
14. Высоцкий, М.М. Новые тенденции в эпидемиологии и факторах риска спорадического рака яичников / М.М. Высоцкий, И.Б. Манухин, М.А. Дигаева. – Текст: непосредственный // Эндоскопическая хирургия. – 2010. – Т.16, №6. – С.56-60.
15. Дамиров, М.М. Дифференциальная диагностика доброкачественных и злокачественных опухолей яичников / М.М. Дамиров, Л. П. Бакулева, Н. Н. Слюсарь. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 1996. – №3. – С.49-50.

16. Диагностическое значение определения уровня гаптоглобина и активности церулоплазмينا у больных раком яичников / Е.И. Сурикова, Горошинская, Н.А. Максимова [и др.]. – Текст: непосредственный // Рос. мед. журн. – 2015. – Т.21, №2. – С. 29-33.
17. Дифференциальная диагностика доброкачественных, пограничных и злокачественных образований яичников у беременных с помощью логистических регрессионных моделей / А.А. Герасимова, Швырев, К.И. Степанов [и др.]. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2012. – №2. – С. 50-56.
18. Достижения протеомики в диагностике рака яичников / А.И. Арчаков, О. В. Макаров, В. М. Говорун [и др.]. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2005. – №5. – С.12-13.
19. Жордания, К.И. Некоторые аспекты диагностики и лечения рака яичников / К. И. Жордания. – Текст: непосредственный // Рус. мед. журн. – 2002. – Т.10, №24. – С.1095-1102.
20. Жордания, К.И. Парадигма этиологии серозного рака яичников / К. И. Жордания, Ю. Г. Паяниди, Е. В. Калиничева. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2014. – №9. – С. 10-15.
21. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского. – Москва, 2018. – 250 с. – Текст: непосредственный.
22. Значение маркеров пролиферации и апоптоза для пограничных опухолей яичника / И.И. Виноградов, Л.Э. Завалишина, Ю.Ю. Андреева [и др.]. – Текст: непосредственный // Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. – 2013. – №3. – С. 130-136.
23. Иммуногистохимические особенности клеток серозной аденокарциномы яичников, определяющие клиническое течение заболевания и выживаемость больных / К. М. Пожарисский, Г. А. Раскин, В. Л. Винокуров [и др.]. – Текст: непосредственный // Арх. патологии. – 2015. – Т.77, №1. – С. 38-40.

24. Инсулиноподобные факторы роста (ИФР) и ИФР-связывающие белки в сыворотке крови больных раком, пограничными и доброкачественными опухолями яичников / Е.С. Герштейн, Э.Р. Исаева, Д.Н. Кушлинский [и др.]. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2014. – №8. – С. 76-80.
25. Интраоперационное внутрибрюшинное химиооперфузионное лечение цисплатином и диоксидом на модели канцероматоза брюшной полости при раке яичника: оценка безопасности и эффективности / В.Г. Беспалов, М.Л. Гершанович, В.А. Филов [и др.]. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2015. – Т.61, №4. – С. 647-652.
26. Интраперитонеальная химиотерапия - путь повышения эффективности лечения рака яичника / В. Г. Беспалов, О.А. Беляева, Г.С. Киреева [и др.]. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2015. – Т.61, №4. – С. 634-641.
27. Использование онкомаркеров в дифференциальной диагностике опухолей и опухолевидных образований яичников у беременных / А. Ю. Мартынов, С.А. Иванец, Т.Ю. Алексеева [и др.]. – Текст: непосредственный // Гинекология. – 2014. – №. 4. – С. 82–86.
28. Квициани, К.Д. Методы оценки состояния маточных труб у женщин с бесплодием / К. Д. Квициани. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2009. – №2. –С.13-15.
29. Киреева, С.Г. Эндосальпингиоз / С.Г. Киреева. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2002. – №3. – С.55-56.
30. Клинико-морфологические факторы прогноза у больных раком яичников / И.В. Паниченко, В.Н. Богатырев, К.И. Жордания, В.П. Козаченко. – Текст : непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2004. – №6. – С.28-31.
31. Клиническая оценка травматичности применения различных видов энергий при хирургическом лечении доброкачественных опухолей яичников / А. С. Гаспаров, Д.С. Титов, Е.Д. Дубинская [и др.]. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2013. – №9. – С. 25-29.
32. Колосов, А.Е. Морфометрические и иммуногистохимические критерии прогноза у больных серозным и муцинозными раком яичников / А. Е. Колосов,

Е. В. Новичков. – Текст: непосредственный // Архив патологии. – 2003. – №5. – С.29-32.

33. Колосов, А.Е. Определение степени риска рецидива овариального рака по данным морфометрического и иммуногистохимического исследования первичной опухоли / А.Е. Колосов, Е.В. Новичков. – Текст: непосредственный // Актуальные вопросы патологической и нормальной морфологии: межрегион. сб. науч. тр., посвящ. 80-летию патолого - анатомической службы Рязанской области / редкол. П.А. Чумаченко [и др.]; РязГМУ. – Рязань; М., 2008. – С.23-26.

34. Коробейников, А.П. Лечебно-диагностическая адекватность лапароскопического доступа и вероятные осложнения при опухолях яичников / А.П. Коробейников, Н. В. Стрижова. – Текст: непосредственный // Эндоскопическая хирургия. – 2001. – Т.7, №5. – С.58-62.

35. Ларионов, К.И. Структура первично-множественных опухолей у больных злокачественными новообразованиями яичников / К.И. Ларионов, А.А. Пазычев. – Текст: непосредственный // Воен.-мед. журн. – 2006. – Т.327, №3. С.70-71.

36. Магнитно-резонансная томография в дифференциальной диагностике образований яичника. Возможности количественной мультипараметрической оценки / А.Е. Солопова, Макацария, А.М. Сдвижков, С.К. Терновой. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2017. – №2. – С. 80-85.

37. Макаров, О.В. Патогенетические аспекты развития опухолей яичников / О.В. Макаров. – Текст: непосредственный // Рос. мед. журн. – 1996. – №6. – С.26-28.

38. Малек, А.В. Поиск генов-мишеней для диагностики и терапии рака яичника / А. В. Малек, Е. В. Бахидзе. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2005. – Т.51, №2. – С.182-186.

39. Манухин, И.Б. Лапароскопическая гистерэктомия при опухолях яичников: обработка маточных сосудов / И.Б. Манухин, М.М. Высоцкий. – Текст: непосредственный // Эндоскопическая хирургия. – 2004. – Т.10, №6. – С.44-46.

40. Методы хирургической профилактики рака молочной железы и рака яичников у носителей BRCA мутаций / Е.М. Бит-Сава, М.Б. Белогурова, Е.Н. Имянитов [и др.]. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2013. – Т.59, №2. – С. 5-11.
41. Михин, И.В. Отдаленные результаты хирургического лечения большой гигантской серозной цистаденомой левого яичника / И.В. Михин, А.С. Панчишкин. – Текст: непосредственный // Хирургия. – 2016. – №4. – С. 64-66.
42. Морфологические и иммуногистохимические особенности придатков матки у женщин с генетической предрасположенностью к развитию рака яичников / Е.А. Билык, Л.Г. Бучинская, Л.З. Полищук, Т. Пеёвич. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2012. – Т.58, №4. – С. 507-513.
43. Морфологические особенности яичников пациенток, перенесших синдром гиперстимуляцию яичников / Н.И. Кондриков, Е.И. Сотникова, В.Л. Гордеева, Т.А. Назаренко. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 1999. – №5. – С.38-41.
44. Морфофункциональная характеристика кровеносных сосудов микроциркуляторного русла в серозных опухолях яичников / Л.М. Михалева, Е.А. Мороз, Т.Г. Бархина [и др.]. – Текст: непосредственный // Архив патологии. – 2005. – Т.67, №6. – С. 28-31.
45. Наследственный рак молочной железы и яичников / С. М. Любченко, Л.Н. Батенева, Е.И. Абрамов [и др.]. – Текст: непосредственный // Злокачественные опухоли. – 2014. – №. – С. 53–60.
46. Новик, В.И. Прогностическая значимость ploидности опухолевых клеток у больных распространенным раком яичников / В.И. Новик, В.А. Геворкян, С.Я. Максимов. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2006. – Т.52, №1. – С.54-58.
47. Новикова, Е.Г. Органосохраняющее лечение больных с пограничными опухолями яичников / Е.Г. Новикова, А.С. Шевчук. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2014. – Т.60, №3. – С. 267-273.

48. Новикова, Е.Г. Органосохраняющее и функционально-щадящее лечение при раке шейки матки / Е.Г. Новикова, В.А. Антипов, Е.А. Ронина. – Текст: непосредственный // *Вопр. онкологии.* – 2006. – Т.52, №1. – С.78-82.
49. Новичков, Е.В. Зависимость прогноза рака яичников от экспрессии рецепторов к половым гормонам и пролиферативной активности опухолевых клеток / Е. В. Новичков, А. А. Вотинцев. – Текст: непосредственный // *Архив патологии.* – 2006. – Т.68, №2. – С. 10-13.
50. Новичков, Е.В. Количественная характеристика компонентов стромы в прогнозе рецидивирования рака яичников / Е. В. Новичков, А. А. Вотинцев. – Текст: непосредственный // *Архив патологии.* – 2005. – Т.67, №4. – С. 29-31.
51. Новичков, Е.В. Патоморфологическая характеристика и критерии прогноза рецидивирования муцинозного рака яичников / Е.В. Новичков, О.Н. Новичкова. – Текст: непосредственный // *Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова.* – 2009. – №3. – С.16-21.
52. Новичков, Е.В. Способ прогнозирования продолжительности жизни больных муцинозной карциномой яичников / Е.В. Новичков. – Текст: непосредственный // *Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова.* – 2009. – №4. – С.15-18.
53. Озерская, И.А. Ультразвуковая диагностика кист яичников (клиническая лекция) / И. А. Озерская, М. И. Агеева. – Текст: непосредственный // *Ультразвуковая и функциональная диагностика.* – 2004. – №4. – С. 110-121.
54. Операция типа "Second-Look" и диагностические лапароскопии в комбинированном и комплексном лечении больных раком яичников / Е. И. Гуло, С.Я. Максимов, М.А. Лившиц, А.М. Щербаков. – Текст: непосредственный // *Вопр. онкологии.* – 1998. – Т.44, №2. – С.205-210.
55. Опухولةассоциированный антиген СА 125 в динамике у больных раком яичников при разных схемах лечения / С.А. Ахмедова, Н.С. Сергеева, Н.В. Маршутина [и др.]. – Текст: непосредственный // *Вопр. онкологии.* – 2003. – Т.49, №1. – С.95-98.

56. Опухоль Крукенберга. – Текст: непосредственный // Фарматека. – 2010. – №6. – С.70.
57. Особенности кардиоваскулярных и метаболических нарушений у женщин после овариоэктомии / В.В. Скибицкий, Ю.Н. Медведева, Е.Л. Шухардина, С.В. Скибицкая. – Текст: непосредственный // Кардиология. – 2007. – Т.47,№10. – С.63-67.
58. Оценка пролиферативной активности и дифференцировки пограничных опухолей яичников / А.В. Баранич, А.С. Шумова, И.И. Виноградов, И.Ю. Виноградов. – Текст: непосредственный // Наука молодых - Eruditio Juvenium. – 2015. – №3. – С. 17-22.
59. Оценка эффективности различных методов кастрации у больных раком молочной железы / Т.М. Кочоян, А.И. Беришвили, С. Ю. Слетина [и др.]. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2012. – Т.58, №1. – С. 85-88.
60. Палади, Г.А. Повторная лапароскопия в комплексной терапии трубно-перитонеального бесплодия / Г.А. Палади, З.К. Сырбу, А.И. Цушко. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 1999. – №5. – С.42-44.
61. Питерская, Е.А. Роль цитологического экспресс-метода в диагностике опухолей яичников / Е.А. Питерская, Г.П. Гладилина. – Текст: непосредственный // Клинич. лаб. диагностика. – 2008. – №8. – С.45.
62. Питерская, Е.А. Цитоморфологические особенности эпителиальных опухолей яичников / Е.А. Питерская, Г.П. Гладилин, Л.Ф. Жандарова. – Текст: непосредственный // Клинич. лаб. диагностика. – 2009. – №4. – С.28-30.
63. Подшивалов, А.В. Гигантская киста яичника / А.В. Подшивалов. – Текст: непосредственный // Хирургия. – 2007. – №12. – С.52.
64. Преимущества лапароскопического доступа в хирургическом лечении опухолей яичников / О.Г. Харлова, И.Б. Манухин, Х.Д. Авалиани. – Текст: непосредственный // Эндоскопическая хирургия. – 2004. – Т.10,№5. – С.20-23.

65. Протеомики-новое направление в изучении опухолевых маркеров при раке яичников / А.И. Арчаков, А.И. Макаров, В.М. Говорун [и др.]. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2003. – №6. – С.9-11.
66. Профилактическая сальпингэктомия / И.А. Петров, О.А. Тихоновская, А.О. Огороков [и др.]. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2016. – №2. – С. 36-42.
67. Рак маточной трубы: клиничко-морфологические особенности, анализ 69 случаев / Е. А. Ульрих, М.Д. Папуниди, А.Ф. Урманчеева, Д.Е. Мацко. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2014. – Т.60, №3. – С. 375-378.
68. Репина, Н.Б. Вопросы этиологии и патогенеза эпителиальных опухолей яичников / Н. Б. Репина. – Текст: непосредственный // Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. – 2004. – №1-2. – С.87-94.
69. Роль антигена Ki-67, мутированного гена-супрессора p53 и митотической активности опухоли в определении прогноза гранулезоклеточных опухолей яичников взрослого типа (ГКОВТ) / О.Ф. Чепик, В.П. Тен, Е.В. Бахидзе, А.В. Волкова. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2005. – Т.51, №4. С.455-459.
70. Роль диспластических изменений эпителия маточной трубы в гистогенезе рака яичников / Г. А. Данилова, Н.В. Андреева, Ю.Ю. Королев [и др.]. – Текст: непосредственный // Архив патологии. – 2015. – №. 4. – С. 9–14.
71. Румянцев, У.В. Особенности диагностики, лечения и профилактики наследственных форм рака молочной железы и яичников. Клинический и генетический скрининг у носителей мутации BRCA 1/2 и лиц с высоким семейным онкологическим риском / У.В. Румянцев, П.О. Румянцев, М.В. Киселева. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2008. – Т.54, №3. – С.251-259.
72. Савран, В.Р. К вопросу о стадировании злокачественных опухолей яичника / В.Р. Савран М.В. Савран. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 1999. – Т.45, №3. – С.223-228.

73. Сафи, Г.Х. Эндохирургическое лечение больных пожилого и старческого возраста с доброкачественными образованиями яичников / Г.Х. Сафи. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2009. – №6. – С.38-40.
74. Светлоклеточный (мезонефроидный рак): редкая опухоль яичника с неоднозначным прогнозом / Д.И. Халимбекова, Е.А. Ульрих, А.Ф. Урманчеева [и др.]. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2014. – Т.60, №3. – С. 379-383.
75. Серологические опухолеассоциированные маркеры СА125 и НЕ4 у больных раком яичников / Н.С. Сергеева, Н.В. Маршутина, И.И. Алентов [и др.]. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2013. – Т.59, №2. – С. 12-21.
76. Сидорова, И.С. Анализ причин запоздалой диагностики рака яичников / И.С. Сидорова, А.Н. Саранцев, М.Р. Марутян. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2004. – №3. – С.34-37.
77. Сирота, И.В. Особенности развития синдрома яичниковой недостаточности после гистерэктомии у женщин репродуктивного возраста / И.В. Сирота, Л.Ю. Давидян, А.Ю. Богдасаров. – Текст: непосредственный // Казан. мед. журн. – 2007. – Т.88, №6. – С.624-627.
78. Современный взгляд на профилактическую тубэктомию / Р. А. Попов, А.А. Слободянюк, Б.А. Коваль, А.А. Барто. – Текст: непосредственный // Кубанский научный медицинский вестник. – 2015. – №. 2. – С.122-128.
79. Сравнительная оценка информативности трансвагинальной эхографии и компьютерной томографии при диагностике опухолей матки и яичников / Л.В. Адамян, А.И. Гус, Л.Б. Бутарева, А.В. Мартиненко. – Текст: непосредственный // Ультразвуковая диагностика. – 1999. – №1. – С.7-11.
80. Стрижакова, Н.В. Вероятные осложнения при лечении опухолей яичников посредством лапароскопического доступа / Н.В. Стрижакова, К.И. Жордания, А.П. Коробейников. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2001. – №6. – С.14-17.

81. Стручкова, Н.Ю. Возможности доплерографии в дифференциальной диагностике злокачественных и доброкачественных опухолей яичников: обзор современной литературы / Н.Ю. Стручкова, М.В. Медведев, Б.И. Зыкин. – Текст: непосредственный // Ультразвуковая диагностика. – 1998. – №3. – С.5-17.
82. Тер-Овакимян, А.Э. Состояние репродуктивного здоровья женщин после оперативного лечения доброкачественных кист яичника / А.Э. Тер-Овакимян, Л.Д. Оразмурадова. – Текст: непосредственный // Казан. мед. журн. – 2008. – Т.89, №2. – С.166-168.
83. Ультрасруктурное исследование эпителия маточных труб у женщин репродуктивного возраста с доброкачественными опухолями и кистами яичников / Э. И. Харченко [и др.]. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2012. – №7. – С. 50-54.
84. Уровень опухолеассоциированного антигена СА 125 при парацентезе больных раком яичников / С.А. Ахмедова, М.П. Мишунина, Н.С. Сергеева [и др.]. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2001. – №3. – С.44-45.
85. Факторы резистентности рака яичников к комбинированной химиотерапии с использованием производных платины / А.Г. Блюменберг, Л.Б. Горбачева, В.А. Горбунова, В.В. Козаченко. – Текст: непосредственный // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1996. – Т.122, №12. – С.651-654.
86. Филатов, А.В. Морфологические критерии определения степени злокачественности и факторов прогноза рака молочной железы / А. В. Филатов, А.В. Зайратьянц. – Текст: непосредственный // Хирург. – 2008. – №. 8. – С. 58–65.
87. Франк, Г.А. Новая классификация опухолей яичника / Г.А. Франк, Л.В. Москвина, Ю. Ю. Андреева. – Текст: непосредственный // Архив патологии. – 2015. – Т.77, № 4.– С. 40–50.
88. Хирургическая менопауза и коморбидная патология в общей врачебной практике / Н.В. Изможерова, Попов, А.Н. Андреев [и др.]. – Текст: непосредственный // Рос. семейный врач. – 2007. – Т.11, №1. – С.16-18.

89. Хирургические вмешательства и особенности послеоперационного периода у больных раком яичников IV стадии / А.И. Мелько, И.И. Ушаков, Е.Ф. Кира [и др.]. – Текст: непосредственный // *Анналы хирургии*. – 2006. – №3. – С.45-47.
90. Хирургическое лечение беременных с опухолями и опухолевидными образованиями яичников / Е. А. Адамян, Л.В. Жордания, К.И. Мартынов [и др.]. – Текст: непосредственный // *Опухоли женской репродуктивной системы*. – 2011. – №. 1. – С. 76–79.
91. Хирургическое лечение больных серозными пограничными опухолями яичников / О.В. Губина, В.В. Кузнецов, А.И. Карселадзе [и др.]. – Текст: непосредственный // *Вопр. онкологии*. – 1998. – Т.44,№5. – С.607-614.
92. Цветовое доплеровское картирование в диагностике опухолей и опухолевидных образований яичников / А.А. Соломатина, К.И. Степанов, О.Н. Курбатская [и др.]. – Текст: непосредственный // *Акушерство и гинекология*. – 2003. – №2. – С.54-57.
93. Цыпурдеева, А.А. Роль лапароскопии в диагностике и лечении рака яичников / А.А. Цыпурдеева, А.Ф. Урманчеева, Д.Р. Зельдович. – Текст: непосредственный // *Вопр. онкологии*. – 2000. – Т.46,№1. – С.76-80.
94. Черенков, В.Г. Эволюция и перспективы развития хирургического лечения рака яичников / В.Г. Черенков, А.А. Шпенкова. – Текст: непосредственный // *Вопр. онкологии*. – 2010. – Т.56, №4. – С. 450-455.
95. Чиссов, В.И. Возможен ли лапароскопический доступ в хирургическом лечении злокачественных опухолей / В.И. Чиссов, Е.Г. Новикова, Н.Г. Сухина. – Текст: непосредственный // *Акушерство и гинекология*. – 2002. – №5. – С.32-36.
96. Шангареева, Р.Х. Дифференциальная диагностика новообразований яичника и эхинококковых кист тазовой локализации у девочек / Р. Х. Шангареева, С.Ю. Муслимова, И. В. Сахаутдинова. – Текст: непосредственный // *Вестн. хирургии им. Грекова*. – 2012. – Т.171, №1. – С. 34-37.
97. Шевчук, А.С. Лапароскопическая хирургия в лечении начального рака яичников: опыт МНИОИ им. П. А. Герцена / А.С. Шевчук, Е.Г. Новикова, А.Б.

Уткина. – Текст: непосредственный // Вопр. онкологии. – 2015. – Т.61, №3. – С. 369-375.

98. Шпарык, Я.В. Лечение запущенного рака яичников (по данным за 1995 г.) / Я.В. Шпарык, Н.В. Томыч, И.И. Попиль. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 1997. – №6. – С.13-16.

99. Шпарык, Я.В. Проблемы лечения гинекологических опухолей на конференции ASCO-96: (18-21 мая 1996 г., Филадельфия) / Я.В. Шпарык. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 1997. – №4. – С.62-63.

100. Экспрессия *ost4*, *p53*, *p16* и *Ki-67* при ВПЧ-ассоциированном предраке и раке шейки матки / А. В. Коган, Е.А. Ли, Ц.Ц. Файзуллина, Н.М. Козаченко. – Текст: непосредственный // Клиническая практика. – 2016. – №. 1. – С. 34–38.

101. Эндометриоз и развитие опухолей / А.И. Щеголев, А.Г. Быков, У.Н. Туманова, С.В. Павлович. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2016. – №11. – С. 49-56.

102. Эффективность ультразвуковых методов исследования в дифференциальной диагностике опухолей и опухолевидных образований яичников у беременных / Н. И. Мартынов, С.А. Липатенкова, Ю.И. Адамян [и др.]. – Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. – 2014. – №. 8. – С. 33–39.

103. Эхография и доплерометрия при пограничных опухолях яичников / Л.В. Адамян, В.Н. Демидов, Ю.И. Липатенкова, О.А. Могиревская. – Текст: непосредственный // Ультразвуковая диагностика в акушерстве, гинекологии и педиатрии. – 2000. – Т.8, №4. – С.289-296.

104. Юрматова, Н.В. Значение гистероскопии для выбора тактики обследования и лечения больных с доброкачественными новообразованиями яичников в сочетании с внутриматочной патологией / Н.В. Юрматова. – Текст: непосредственный // Эндоскопическая хирургия. – 2008. – Т.14, №1. – С.53-55.

105. *sFas*, лептин и VEGF в сыворотке крови больных раком и пациенток с доброкачественными новообразованиями яичников / В.Д. Ермилова

К.П. Лактионов, И.Б. Манухин [и др.]. – Текст: непосредственный // Эндоскопическая хирургия. – 2010. – Т.16, №1. – С.38-42.

106. A candidate precursor to pelvic serous cancer (p53 signature) and its prevalence in ovaries and fallopian tubes from women with BRCA mutations / A. K. Folkins, E. A. Jarboe, A. Saleemuddin [et al.]. – Text: visual // Gynecol. Oncol. – 2008. – Vol. 109, № 2. – P. 168–173.

107. A candidate precursor to serous carcinoma that originates in the distal fallopian tube / Y. Lee, A. Miron, R. Drapkin [et al.]. – Text: visual // J. Pathol. – 2007. – Vol. 211, № 1. – P. 26–35.

108. A Framework for Evaluating Biomarkers for Early Detection: Validation of Biomarker Panels for Ovarian Cancer / C. S. Zhu, P. F. Pinsky, D. W. Cramer [et al.]; PLCO Project Team. – Text: visual // Cancer Prev. Res. – 2011. – Vol. 4, № 3. – P. 375–383.

109. A genetically engineered ovarian cancer mouse model based on fallopian tube transformation mimics human high-grade serous carcinoma development / C. A. Sherman-Baust, E. Kuhn, B. L. Valle [et al.]. – Text: visual // J. Pathol. – 2014. – Vol. 233, № 3. – P. 228–37.

110. A novel role for microRNA-129-5p in inhibiting ovarian cancer cell proliferation and survival via direct suppression of transcriptional co-activators YAP and TAZ / G. Tan, X. Cao, Q. Dai [et al.]. – Text: visual // Oncotarget. – 2015. – Vol. 6, № 11. – P. 8676–86.

111. A p53-Pax2 Pathway in Kidney Development: Implications for Nephrogenesis / Z. Saifudeen, J. Liu, S. Dipp [et al.]. – Text: visual // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, № 9. – P. e44869.

112. A study of ovarian cancer biomarker amplification using ultrasound for early stage detection / D. Peng, T. Xu, T. J. Mason, W. Wu. – Text : visual // Ultrasonics. – 2014. – Vol. 54, № 2. – P. 451–454.

113. Adenofibroma of the fimbria: a common entity that is indistinguishable From Ovarian Adenofibroma / V. Bossuyt, F. Medeiros, R. Drapkin [et al.]. – Text : visual // Int. J. Gynecol. Pathol. – 2008. – Vol. 27, № 3. – P. 390–397.

114. Advances in serous tubal intraepithelial carcinoma: correlation with high grade serous carcinoma and ovarian carcinogenesis / H.-X. Li, Z.-H. Lu, K. Shen [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2014. – Vol. 7, № 3. – P. 848–57.
115. Analysis of epithelial and mesenchymal markers in ovarian cancer reveals phenotypic heterogeneity and plasticity / R. Strauss, Z.-Y. Li, Y. Liu [et al.]. – Text : visual // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6, № 1. – P. e16186.
116. Aoki, Y. Early form of ovarian cancer originating in inclusion cysts. A case report / Y. Aoki, N. Kawada, K. Tanaka. – Text : visual // *J. Reprod. Med.* – 2000. – Vol. 45, № 2. – P. 159–61.
117. Are All Pelvic (Nonuterine) Serous Carcinomas of Tubal Origin? / C. G. Przybycin, R. J. Kurman, B. M. Ronnett [et al.]. – Text : visual // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2010. – Vol. 34, № 10. – P. 1407–1416.
118. Assessing mutant p53 in primary high-grade serous ovarian cancer using immunohistochemistry and massively parallel sequencing / A. J. Cole, T. Dwight, A. J. Gill [et al.]. – Text : visual // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6, № 1. – P. 26191.
119. Assessment of fallopian tube cytology for the diagnosis of endometriosis and hydrosalpinx / T. Matsushima, H. Kaseki, K. Ishihara, T. Araki. – Text : visual // *J. Nippon Med. Sch.* – 2002. – Vol. 69, № 5. – P. 445–50.
120. Attributes of Oct4 in stem cell biology: perspectives on cancer stem cells of the ovary / C. Samardzija, M. Quinn, J. K. Findlay, N. Ahmed. – Text : visual // *J. Ovarian Res.* – 2012. – Vol. 5, № 1. – P. 37.
121. Auersperg, N. Ovarian surface epithelium as a source of ovarian cancers: Unwarranted speculation or evidence-based hypothesis? / N. Auersperg. – Text : visual // *Gynecol. Oncol.* – 2013. – Vol. 130, № 1. – P. 246–251.
122. Auersperg, N. The origin of ovarian cancers--hypotheses and controversies / N. Auersperg. – Text : visual // *Front. Biosci. (Schol. Ed).* – 2013. – Vol. 5. – P. 709–19.
123. Auersperg, N. The Origin of Ovarian Carcinomas / N. Auersperg. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2011. – Vol. 30, № 1. – P. 12–21.
124. Auersperg, N. The stem-cell profile of ovarian surface epithelium is

reproduced in the oviductal fimbriae, with increased stem-cell marker density in distal parts of the fimbriae / N. Auersperg. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2013. – Vol. 32, № 5. – P. 444–53.

125. Autonomy of the epithelial phenotype in human ovarian surface epithelium: Changes with neoplastic progression and with a family history of ovarian cancer / H. G. Dyck, T. C. Hamilton, A. K. Godwin [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Cancer.* – 1996. – Vol. 69, № 6. – P. 429–436.

126. Back to the Future? The Fallopian Tube, Precursor Escape and a Dualistic Model of High-Grade Serous Carcinogenesis / T. Soong, D. Kolin, N. Teschan, C. Crum. – Text : visual // *Cancers (Basel).* – 2018. – Vol. 10, № 12. – P. 468.

127. Banet, N. Two Types of Ovarian Cortical Inclusion Cysts / N. Banet, R. J. Kurman. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2015. – Vol. 34, № 1. – P. 3–8.

128. Biomarkers to identify and isolate senescent cells / M. Matjusaitis, G. Chin, E. A. Sarnoski, A. Stolzing. – Text : visual // *Ageing Res. Rev.* – 2016. – Vol. 29. – P. 1–12.

129. Bjersing, L. Ovulation and the role of the ovarian surface epithelium / L. Bjersing, S. Cajander. – Text : visual // *Experientia.* – 1975. – Vol. 31, № 5. – P. 605–8.

130. Bone morphogenetic protein signaling suppresses tumorigenesis at gastric epithelial transition zones in mice / S. A. Bleuming, X. C. He, L. L. Kodach [et al.]. – Text : visual // *Cancer Res.* – 2007. – Vol. 67, № 17. – P. 8149–55.

131. Boucher, N.A. Technical External Quality Assessment for SurePath<sup>®</sup> stained liquid-based cytology gynaecological cervical samples using control material - a novel approach / N. A. Boucher, B. G. Rose. – Text : visual // *Cytopathology.* – 2009. – Vol. 20, № 3. – P. 169–175.

132. Brachova, P. The Consequence of Oncomorphic TP53 Mutations in Ovarian Cancer / P. Brachova, K. Thiel, K. Leslie. – Text : visual // *Int. J. Mol. Sci.* – 2013. – Vol. 14, № 9. – P. 19257–19275.

133. BRAF Mutation is associated with early stage disease and improved outcome in patients with low-grade serous ovarian cancer / R. N. Grisham, G. Iyer, K. Garg [et

- al.]. – Text : visual // *Cancer*. – 2013. – Vol. 119, № 3. – P. 548–554.
134. BRCA1 and BRCA2 mutations correlate with TP53 abnormalities and presence of immune cell infiltrates in ovarian high-grade serous carcinoma / J. N. McAlpine, H. Porter, M. Köbel [et al.]. – Text : visual // *Mod. Pathol.* – 2012. – Vol. 25, № 5. – P. 740–750.
135. Brush Cytology of the Fallopian Tube and Implications in Ovarian Cancer Screening / D. Lum, R. Guido, E. Rodriguez [et al.]. – Text : visual // *J. Minim. Invasive Gynecol.* – 2014. – Vol. 21, № 5. – P. 851–856.
136. Calin, G.A. MicroRNA signatures in human cancers / G.A. Calin, C. Sevignani, C.D. Dumitru. – Text : visual // *Cancer Res.* – 2007. – Vol. 67, № 18. – P. 8699-707..
137. Cancer-associated fibroblasts and their putative role in potentiating the initiation and development of epithelial ovarian cancer / I. G. Schauer, A. K. Sood, S. Mok, J. Liu. – Text : visual // *Neoplasia*. – 2011. – Vol. 13, № 5. – P. 393–405.
138. Candidate serous cancer precursors in fallopian tube epithelium of BRCA1/2 mutation carriers / P. A. Shaw, M. Rouzbahman, E. S. Pizer [et al.]. – Text : visual // *Mod. Pathol.* – 2009. – Vol. 22, № 9. – P. 1133–1138.
139. CD44 expression indicates favorable prognosis in epithelial ovarian cancer / S. Sillanpää, M. A. Anttila, K. Voutilainen [et al.]. – Text : visual // *Clin. Cancer Res.* – 2003. – Vol. 9, № 14. – P. 5318–24.
140. Characterization of cultured human ovarian surface epithelial cells: phenotypic plasticity and premalignant changes / N. Auersperg, S. L. Maines-Bandiera, H. G. Dyck, P. A. Kruk. – Text : visual // *Lab. Invest.* – 1994. – Vol.71, № 4. – P. 510–8.
141. Characterization of Primary Cilia in Normal Fallopian Tube Epithelium and Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma / Z. A. Abdelhamed, T. A. Ryan, M. Fuller [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Cancer*. – 2018. – Vol. 28, № 8. – P. 1535–1544.
142. Choice of normal ovarian control influences determination of differentially expressed genes in ovarian cancer expression profiling studies / K. K. Zorn, A. A. Jazaeri, C. S. Awtrey [et al.]. – Text : visual // *Clin. Cancer Res.* – 2003. – Vol. 9,

№ 13. – P. 4811–8.

143. Chromosomal instability in fallopian tube precursor lesions of serous carcinoma and frequent monoclonality of synchronous ovarian and fallopian tube mucosal serous carcinoma / S. Salvador, A. Rempel, R. A. Soslow [et al.]. – Text : visual // *Gynecol. Oncol.* – 2008. – Vol. 110, № 3. – P. 408–417.

144. Clinical and pathologic findings of prophylactic salpingo-oophorectomies in 159 BRCA1 and BRCA2 carriers / A. Finch, P. Shaw, B. Rosen [et al.]. – Text : visual // *Gynecol. Oncol.* – 2006. – Vol. 100, № 1. – P. 58–64.

145. Clinical Implication of p16, Ki-67, and Proliferating Cell Nuclear Antigen Expression in Cervical Neoplasia: Improvement of Diagnostic Accuracy for High-grade Squamous Intraepithelial Lesion and Prediction of Resection Margin Involvement on Conization Specimen / T. H. Kim, J. H. Han, E. Shin [et al.]. – Text : visual // *J. cancer Prev.* – 2015. – Vol. 20, № 1. – P. 70–7.

146. Coexisting Intraepithelial Serous Carcinomas of the Endometrium and Fallopian Tube: Frequency and Potential Significance / E. A. Jarboe, A. Miron, J. W. Carlson [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2009. – Vol. 28, № 4. – P. 308–315.

147. Constitutive and conditional cadherin expression in cultured human ovarian surface epithelium: influence of family history of ovarian cancer / A. S. Wong, S. L. Maines-Bandiera, B. Rosen [et al.]. – Text : visual // *Int. J. cancer.* – 1999. – Vol. 81, № 2. – P. 180–8.

148. Corneal limbal microenvironment can induce transdifferentiation of hair follicle stem cells into corneal epithelial-like cells / E. A. Blazejewska, U. Schlötzer-Schrehardt, M. Zenkel [et al.]. – Text : visual // *Stem Cells.* – 2009. – Vol. 27, № 3. – P. 642–52.

149. Coulombe, P.A. Wound Epithelialization: Accelerating the Pace of Discovery / P. A. Coulombe. – Text : visual // *J. Invest. Dermatol.* – 2003. – Vol. 121, № 2. – P. 219–230.

150. Crum, C.P. Bringing the p53 signature into focus / C. P. Crum, W. Xian. – Text : visual // *Cancer.* – 2010. – Vol. 116, № 22. – P. 5119–5121.

151. Crum, C.P. Intercepting pelvic cancer in the distal fallopian tube: theories and realities / C. P. Crum. – Text : visual // *Mol. Oncol.* – 2009. – Vol. 3, № 2. – P. 165–70.
152. Current perspectives on recommendations for BRCA genetic testing in ovarian cancer patients / I. Vergote, S. Banerjee, A.-M. Gerdes [et al.]. – Text : visual // *Eur. J. Cancer* – 2016. – Vol. 69. – P. 127–134.
153. Current status and implications of microRNAs in ovarian cancer diagnosis and therapy / M. S. Zaman, D. M. Maher, S. Khan [et al.]. – Text : visual // *J. Ovarian Res.* – 2012. – Vol. 5, № 1. – P. 44.
154. Cytologic Findings in Experimental in vivo Fallopian Tube Brush Specimens / E. F. Rodriguez, D. Lum, R. Guido, R. M. Austin. – Text : visual // *Acta Cytol.* – 2013. – Vol. 57, № 6. – P. 611–618.
155. Cytologic studies of the fallopian tube in patients undergoing salpingo-oophorectomy / H. Chen, R. Klein, S. Arnold [et al.]. – Text : visual // *Cancer Cell Int.* – 2016. – Vol. 16, № 1. – P. 78.
156. Cytology of the fallopian tube: A screening model for high-grade serous carcinoma / M. Dhanani, A. Nassar, M. Charles, T. Dinh. – Text : visual // *Cytojournal.* – 2018. – Vol. 15, № 1. – P. 28.
157. Davies, B.R. Expression of E-cadherin, alpha-catenin and  $\beta$ -catenin in normal ovarian surface epithelium and epithelial ovarian cancers / B. R. Davies, S. D. Worsley, B. A. Ponder. – Text : visual // *Histopathology.* – 1998. – Vol. 32, № 1. – P. 69–80.
158. Desmosomes: adhesive strength and signalling in health and disease / H. A. Thomason, A. Scothern, S. McHarg, D. R. Garrod. – Text : visual // *Biochem. J.* – 2010. – Vol. 429, № 3. – P. 419–33.
159. Diagnosis of Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma Based on Morphologic and Immunohistochemical Features / K. Visvanathan, R. Vang, P. Shaw [et al.]. – Text : visual // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2011. – Vol. 35, № 12. – P. 1766–1775.
160. Diagnostic accuracy of transvaginal ultrasound examination for assigning a specific diagnosis to adnexal masses / A. Sokalska, D. Timmerman, A. C. Testa [et al.].

- Text : visual // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2009. – Vol. 34, № 4. – P. 462–470.
161. Diagnostic Performance of Risk of Ovarian Malignancy Algorithm Against CA125 and HE4 in Connection With Ovarian Cancer: A Meta-analysis / F. Dayyani, S. Uhlig, B. Colson [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2016. – Vol. 26, № 9. – P. 1586–1593.
162. Differential expression of pluripotent and germ cell markers in ovarian surface epithelium according to age in female mice / B. Joo, I. Jung, M. Park [et al.]. – Text : visual // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 12, № 1. – P. 113.
163. Distinct subtypes of serous ovarian carcinoma identified by p53 determination / H. Lassus, A. Leminen, J. Lundin [et al.]. – Text : visual // *Gynecol. Oncol.* – 2003. – Vol. 91, № 3. – P. 504–12.
164. Do Deeper Sections Increase the Frequency of Detection of Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma (STIC) in the “Sectioning and Extensively Examining the FIMbriated End” (SEE-FIM) Protocol? / E. Mahe, S. Tang, P. Deb [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2013. – Vol. 32, № 4. – P. 353–357.
165. Doubeni, C.A. Diagnosis and Management of Ovarian Cancer / C. A. Doubeni, A. R. Doubeni, A. E. Myers. – Text : visual // *Am. Fam. Physician.* – 2016. – Vol. 93, № 11. – P. 937–44.
166. Down regulation of miR-145-5p in cancer cells and their derived exosomes may contribute to the development of ovarian cancer by targeting CT / W. Hang, Y. Feng, Z. Sang [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Mol. Med.* – 2019. – Vol. 43, № 1. – P. 256–266.
167. Down-regulation of the cyclin E1 oncogene expression by microRNA-16-1 induces cell cycle arrest in human cancer cells / F. Wang, X.-D. Fu, Y. Zhou, Y. Zhang. – Text : visual // *BMB Rep.* – 2009. – Vol. 42, № 11. – P. 725–30.
168. Doyle, L.K. Regulation of the proliferative activity of ovarian surface epithelial cells by follicular fluid / L. K. Doyle, F. X. Donadeu. – Text : visual // *Anim. Reprod. Sci.* – 2009. – Vol. 114, № 4. – P. 443–448.
169. Dubeau, L. Coming into focus: the nonovarian origins of ovarian cancer / L. Dubeau, R. Drapkin. – Text : visual // *Ann. Oncol.* – 2013. – Vol. 24, №8 (Suppl.).

– P. viii28–viii35.

170. Dudkiewicz, J. Quantitative and qualitative changes of epithelial cells of fallopian tubes in women according to the phase of menstrual cycle. A cytologic study / J. Dudkiewicz. – Text : visual // *Acta Cytol.* – Vol. 14, № 8. – P. 531–7.

171. Dysplastic changes in prophylactically removed Fallopian tubes of women predisposed to developing ovarian cancer / J. M. J. Piek, P. J. van Diest, R. P. Zweemer [et al.]. – Text : visual // *J. Pathol.* – 2001. – Vol. 195, № 4. – P. 451–456.

172. Early alterations in ovarian surface epithelial cells and induction of ovarian epithelial tumors triggered by loss of FSH receptor / X. Chen, J. Aravindakshan, Y. Yang, M. R. Sairam. – Text : visual // *Neoplasia.* – 2007. – Vol. 9, № 6. – P. 521–31.

173. Early detection and treatment of ovarian cancer: shifting from early stage to minimal volume of disease based on a new model of carcinogenesis / R. J. Kurman, K. Visvanathan, R. Roden [et al.]. – Text : visual // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2008. – Vol. 198, № 4. – P. 351–6.

174. Early Detection of Ovarian Cancer Using Cells Sourced from a Local Microenvironment / M. M. Galey, A. N. Young, V. Z. Petukhova [et al.]. – Text : visual // *Women's Healthcare.* – 2014. – February. – P. 8-12.

175. Early Detection of Ovarian Cancer using the Risk of Ovarian Cancer Algorithm with Frequent CA125 Testing in Women at Increased Familial Risk – Combined Results from Two Screening Trials / S. J. Skates, M. H. Greene, S. S. Buys [et al.]. – Text : visual // *Clin. Cancer Res.* – 2017. – Vol. 23, № 14. – P. 3628–3637.

176. Early preinvasive lesions in ovarian cancer / G. Chene, G. Lamblin, K. Le Bail-Carval [et al.]. – Text : visual // *Biomed Res. Int.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 639252.

177. Early salpingectomy (TUbectomy) with delayed oophorectomy to improve quality of life as alternative for risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA1/2 mutation carriers (TUBA study): a prospective non-randomised multicentre study / M. G. Harmsen, M. Arts-de Jong, N. Hoogerbrugge [et al.]. – Text : visual // *BMC Cancer.* – 2015. – Vol. 15, № 1. – P. 593.

178. Early transformative changes in normal ovarian surface epithelium induced by oxidative stress require Akt upregulation, DNA damage and epithelial-stromal interaction / S. M. King, S. M. Quartuccio, B. C. Vanderhyden, J. E. Burdette. – Text : visual // *Carcinogenesis*. – 2013. – Vol. 34, № 5. – P. 1125–33.
179. Effect of Screening on Ovarian Cancer Mortality / S. S. Buys, E. Partridge, A. Black [et al.]; PLCO Project Team. – Text : visual // *JAMA*. – 2011. – Vol. 305, № 22. – P. 2295.
180. Effectiveness of a Multivariate Index Assay in the Preoperative Assessment of Ovarian Tumors / F. R. Ueland, C. P. Desimone, L. G. Seamon [et al.]. – Text : visual // *Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 117, № 6. – P. 1289–1297.
181. Effects of epidermal growth factor/hydrocortisone on the growth and differentiation of human ovarian surface epithelium / C. M. Salamanca, S. L. Maines-Bandiera, P. C. K. Leung [et al.]. – Text : visual // *J. Soc. Gynecol. Investig.* – 2004. – Vol. 11, № 4. – P. 241–51.
182. Emerging roles for PAX8 in ovarian cancer and endosalpingeal development / N. J. Bowen, S. Logani, E. B. Dickerson [et al.]. – Text : visual // *Gynecol. Oncol.* – 2007. – Vol. 104, № 2. – P. 331–337.
183. Epidemiologic features of borderline ovarian tumors in California: a population-based study / C. R. Morris, L. Liu, A. O. Rodriguez [et al.]. – Text : visual // *Cancer Causes Control*. – 2013. – Vol. 24, № 4. – P. 665–674.
184. Epidemiology of ovarian cancer: A review / R. M. Brett, P. B. Jennifer, S. A. Thomas [et al.]. – Text : visual // *Cancer Biol. Med.* – 2017. – Vol. 14, № 1. – P. 9–32.
185. Epigenetic regulation of microRNAs in cancer: An integrated review of literature / T. Kunej, I. Godnic, J. Ferdin [et al.]. – Text : visual // *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* – 2011. – Vol. 717, № 1–2. – P. 77–84.
186. Epigenetic silencing of microRNA-199b-5p is associated with acquired chemoresistance via activation of JAG1-Notch1 signaling in ovarian cancer / M. X. Liu, M. K. Y. Siu, S. S. Liu [et al.]. – Text : visual // *Oncotarget*. – 2014. – Vol. 5, № 4. – P. 944–58.

187. Epithelial ovarian cancer: An overview / A. Desai, J. Xu, K. Aysola [et al.]. – Text : visual // *World J. Transl. Med.* – 2014. – Vol. 3, № 1. – P. 1–8.
188. Evaluation of a novel approach for the measurement of RNA quality / T. M. Wilkes, A. S. Devonshire, S. L. Ellison, C. A. Foy. – Text : visual // *BMC Res. Notes.* – 2010. – Vol. 3. – P. 89.
189. Evaluation of the Diagnostic Accuracy of the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm in Women With a Pelvic Mass / R. G. Moore, M. C. Miller, P. Disilvestro [et al.]. – Text : visual // *Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 118, № 2 (Part 1). – P. 280–288.
190. Exploring the Role of Fallopian Ciliated Cells in the Pathogenesis of High-Grade Serous Ovarian Cancer / M. Coan, G. Rampioni Vinciguerra, L. Cesaratto [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, № 9. – P. 2512.
191. Expression of octamer-4 in serous and mucinous ovarian carcinoma / J. Zhang, Y.-L. Li, C.-Y. Zhou [et al.]. – Text : visual // *J. Clin. Pathol.* – 2010. – Vol. 63, № 10. – P. 879–83.
192. Expression of Stem Cell Markers in Preinvasive Tubal Lesions of Ovarian Carcinoma / G. Chene, V. Ouellet, K. Rahimi [et al.]. – Text : visual // *Biomed Res. Int.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 808531.
193. Fallopian tissue sampling with a cytobrush during hysteroscopy: a new approach for detecting tubal infection / G. Haeusler, C. Tempfer, R. Lehner [et al.]. – Text : visual // *Fertil. Steril.* – 1997. – Vol. 67, № 3. – P. 580–2.
194. Fallopian tube ciliary beat frequency in relation to the stage of menstrual cycle and anatomical site / R. A. Lyons, O. Djahanbakhch, T. Mahmood [et al.]. – Text : visual // *Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 17, № 3. – P. 584–8.
195. Fallopian tube secretory cell expansion: a sensitive biomarker for ovarian serous carcinogenesis [Retraction] . – Text : visual // *Am. J. Transl. Res.* – 2016. – Vol. 8, № 10. – P. 4510.
196. Feeley, K.M. Precursor lesions of ovarian epithelial malignancy / K. M. Feeley, M. Wells. – Text : visual // *Histopathology.* – 2001. – Vol. 38, № 2. – P. 87–95.

197. Female mice chimeric for expression of the simian virus 40 TAg under control of the MISIR promoter develop epithelial ovarian cancer / D. C. Connolly, R. Bao, A. Y. Nikitin [et al.]. – Text : visual // *Cancer Res.* – 2003. – Vol. 63, № 6. – P. 1389–97.
198. Fezf2 promotes neuronal differentiation through localised activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signalling during forebrain development / S. Zhang, J. Li, R. Lea [et al.]. – Text : visual // *Development*. – 2014. – Vol. 141, № 24. – P. 4794–805.
199. Finch, A. Salpingo-oophorectomy and the Risk of Ovarian, Fallopian Tube, and Peritoneal Cancers in Women With a BRCA1/BRCA2 Mutation / A. Finch. – Text : visual // *JAMA*. – 2006. – Vol. 296, № 2. – P. 185.
200. Fluhmann, C.F. Carcinoma in situ and the transitional zone of the cervix uteri / C. F. Fluhmann. – Text : visual // *Obstet. Gynecol.* – 1960. – Vol. 16. – P. 424–37.
201. Fong, M.Y. Ovarian cancer mouse models: a summary of current models and their limitations / M. Y. Fong, S. S. Kakar. – Text : visual // *J. Ovarian Res.* – 2009. – Vol. 2, № 1. – P. 12.
202. Formation of Fallopian tubal fluid: role of a neglected epithelium / H. J. Leese, J. I. Tay, J. Reischl, S. J. Downing. – Text : visual // *Reproduction*. – 2001. – Vol. 121, № 3. – P. 339–46.
203. Frequency of papillary tubal hyperplasia (PTH), salpingoliths and transition from adenoma to borderline ovarian tumors (BOT): A systematic analysis of 74 BOT with different histologic types / L.-C. Horn, K. Angermann, B. Hentschel [et al.]. – Text : visual // *Pathol. Res. Pract.* – 2017. – Vol. 213, № 4. – P. 305–309.
204. Frequency of Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma in Various Gynecologic Malignancies / S. Tang, K. Onuma, P. Deb [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2012. – Vol. 31, № 2. – P. 103–110.
205. Gamwell, L.F. The mouse ovarian surface epithelium contains a population of LY6A (SCA-1) expressing progenitor cells that are regulated by ovulation-associated factors / L. F. Gamwell, O. Collins, B. C. Vanderhyden. – Text : visual // *Biol. Reprod.* – 2012. – Vol. 87, № 4. – P. 80.
206. Garson, K. Epithelial ovarian cancer stem cells: underlying complexity of a

- simple paradigm / K. Garson, B. C. Vanderhyden. – Text : visual // *Reproduction*. – 2015. – Vol. 149, № 2. – P. R59-70.
207. Gastric juice miR-129 as a potential biomarker for screening gastric cancer / X. Yu, L. Luo, Y. Wu [et al.]. – Text : visual // *Med. Oncol.* – 2013. – Vol. 30, № 1. – P. 365.
208. Gene Expression Profiles of Luteal Phase Fallopian Tube Epithelium from BRCA Mutation Carriers Resemble High-Grade Serous Carcinoma / A. A. Tone, H. Begley, M. Sharma [et al.]. – Text : visual // *Clin. Cancer Res.* – 2008. – Vol. 14, № 13. – P. 4067–4078.
209. Gene expression profiling supports the hypothesis that human ovarian surface epithelia are multipotent and capable of serving as ovarian cancer initiating cells / N. J. Bowen, L. D. Walker, L. V Matyunina [et al.]. – Text : visual // *BMC Med. Genomics*. – 2009. – Vol. 2, № 1. – P. 71.
210. Gene Expression Signature of Normal Cell-of-Origin Predicts Ovarian Tumor Outcomes / M. A. Merritt, S. Bentink, M. Schwede [et al.]. – Text : visual // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, № 11. – P. e80314.
211. Genetic Analysis of the Early Natural History of Epithelial Ovarian Carcinoma / B. Pothuri, M. M. Leitao, D. A. Levine [et al.]. – Text : visual // *PLoS One*. – 2010. – Vol. 5, № 4. – P. e10358.
212. Genetic epidemiology of ovarian cancer and prospects for polygenic risk prediction / M. R. Jones, D. Kamara, B. Y. Karlan [et al.]. – Text : visual // *Gynecol. Oncol.* – 2017. – Vol. 147, № 3. – P. 705–713.
213. Genomic and epigenetic alterations deregulate microRNA expression in human epithelial ovarian cancer / L. Zhang, S. Volinia, T. Bonome [et al.]. – Text : visual // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2008. – Vol. 105, № 19. – P. 7004–7009.
214. Gerstein, M. ENCODE leads the way on big data / M. Gerstein. – Text : visual // *Nature*. – 2012. – Vol. 489, № 7415. – P. 208–208.
215. Good performance of p16/ki-67 dual-stained cytology for surveillance of women treated for high-grade CIN / N. J. Polman, M. H. Uijterwaal, B. I. Witte [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Cancer*. – 2017. – Vol. 140, № 2. – P. 423–430.

216. Henderson, J.T. Screening for Ovarian Cancer / J. T. Henderson, E. M. Webber, G. F. Sawaya. – Text : visual // JAMA. – 2018. – Vol. 319, № 6. – P. 595.
217. Herzberg, A.J. Color atlas of normal cytology / A. J. Herzberg, D. S. Raso, J. F. Silverman. – Churchill Livingstone, 1999. – 490 p. – Text : visual.
218. High-grade serous carcinoma with discordant p53 signature: report of a case with new insight regarding high-grade serous carcinogenesis / Y. Hatano, S. Fukuda, H. Makino [et al.]. – Text : visual // Diagn. Pathol. – 2018. – Vol. 13, № 1. – P. 24.
219. Histologic, Molecular, and Cytogenetic Features of Ovarian Cancers: Implications for Diagnosis and Treatment / N. Lalwani, S. R. Prasad, R. Vikram [et al.]. – Text : visual // RadioGraphics. – 2011. – Vol. 31, № 3. – P. 625–646.
220. Hu, L. Ovarian cancer stem-like side-population cells are tumorigenic and chemoresistant / L. Hu, C. McArthur, R. B. Jaffe. – Text : visual // Br. J. Cancer. – 2010. – Vol. 102, № 8. – P. 1276–83.
221. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers / G. A. Calin, C. Sevignani, C. D. Dumitru [et al.]. – Text : visual // Proc. Natl. Acad. Sci. – 2004. – Vol. 101, № 9. – P. 2999–3004.
222. Hunn, J. Ovarian Cancer / J. Hunn, G. C. Rodriguez. – Text : visual // Clin. Obstet. Gynecol. – 2012. – Vol. 55, № 1. – P. 3–23.
223. Identification of core aberrantly expressed microRNAs in serous ovarian carcinoma / S.F. Chen, Z. Liu, S. Chaurasiya [et al.]. – Text : visual // Oncotarget. – 2018. – Vol. 9, № 29. – P. 20451–20466.
224. Identification of epithelial label-retaining cells at the transition between the anal canal and the rectum in mice / L. A. Runck, M. Kramer, G. Ciruolo [et al.]. – Text : visual // Cell Cycle – 2010. – Vol. 9, № 15. – P. 3039–45.
225. Identification of Novel Somatic TP53 Mutations in Patients with High-Grade Serous Ovarian Cancer (HGSOC) Using Next-Generation Sequencing (NGS) / M. Garziera, E. Cecchin, V. Canzonieri [et al.]. – Text : visual // Int. J. Mol. Sci. – 2018. – Vol. 19, № 5. – P. 1510.
226. Immunocytochemical Assessment of p53 Protein to Detect Malignancy in Increased Cell-Yield Brush Cytology from the Biliopancreatic Tree / V. Villanacci, R.

Cestari, S. Giulini [et al.]. – Text : visual // *Dig. Dis. Sci.* – 2009. – Vol. 54, № 4. – P. 789–792.

227. Immunohistochemical Overexpression of p16 and p53 in Uterine Serous Carcinoma and Ovarian High-grade Serous Carcinoma / A. G. Chiesa-Vottero, A. Malpica, M. T. Deavers [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2007. – Vol. 26, № 3. – P. 328–333.

228. Immunohistochemical staining patterns of p53 can serve as a surrogate marker for TP53 mutations in ovarian carcinoma: an immunohistochemical and nucleotide sequencing analysis / A. Yemelyanova, R. Vang, M. Kshirsagar [et al.]. – Text : visual // *Mod. Pathol.* – 2011. – Vol. 24, № 9. – P. 1248–1253.

229. IMP3 as a cytoplasmic biomarker for early serous tubal carcinogenesis / Y. Wang, L. Li, Y. Wang [et al.]. – Text : visual // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* – 2014. – Vol. 33, № 1. – P. 60.

230. IMP3 signatures of fallopian tube: a risk for pelvic serous cancers / Y. Wang, Y. Wang, D. Li [et al.]. – Text : visual // *J. Hematol. Oncol.* – 2014. – Vol. 7, № 1. – P. 49.

231. Impact and mechanistic role of oral contraceptive pills on the number and epithelial type of ovarian cortical inclusion cysts; a clinicopathology and immunohistochemical study / A. DastranjTabrizi, P. MostafaGharabaghi, F. SheikhzadehHesari [et al.]. – Text : visual // *Diagn. Pathol.* – 2016. – Vol. 11, № 1. – P. 30.

232. Incidental carcinomas in prophylactic specimens in BRCA1 and BRCA2 germ-line mutation carriers, with emphasis on fallopian tube lesions: report of 6 cases and review of the literature / M. L. Carcangiu, B. Peissel, B. Pasini [et al.]. – Text : visual // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2006. – Vol. 30, № 10. – P. 1222–30.

233. Induction of carcinogenesis by concurrent inactivation of p53 and Rb1 in the mouse ovarian surface epithelium / A. Flesken-Nikitin, K.-C. Choi, J. P. Eng [et al.]. – Text : visual // *Cancer Res.* – 2003. – Vol. 63, № 13. – P. 3459–63.

234. Integrated Analyses Identify a Master MicroRNA Regulatory Network for the Mesenchymal Subtype in Serous Ovarian Cancer / D. Yang, Y. Sun, L. Hu [et al.].

- Text : visual // *Cancer Cell*. – 2013. – Vol. 23, № 2. – P. 186–199.
235. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma / D. Bell, A. Berchuck, M. Birrer, E. Thomson. – Text : visual // *Nature*. – 2011. – Vol. 474, № 7353. – P. 609–615.
236. Intercepting early pelvic serous carcinoma by routine pathological examination of the fimbria / D. R. Semmel, A. K. Folkins, M. S. Hirsch [et al.]. – Text : visual // *Mod. Pathol.* – 2009. – Vol. 22, № 8. – P. 985–988.
237. Intraepithelial Carcinoma of the Fimbria and Pelvic Serous Carcinoma: Evidence for a Causal Relationship / D. W. Kindelberger, Y. Lee, A. Miron [et al.]. – Text : visual // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2007. – Vol. 31, № 2. – P. 161–169.
238. Intraindividual genomic heterogeneity of high-grade serous carcinoma of the ovary and clinical utility of ascitic cancer cells for mutation profiling / Y. J. Choi, J.-K. Rhee, S. Y. Hur [et al.]. – Text : visual // *J. Pathol.* – 2017. – Vol. 241, № 1. – P. 57–66.
239. Intra-tumor heterogeneity in TP53 null High Grade Serous Ovarian Carcinoma progression / A. Mota, J. C. Triviño, A. Rojo-Sebastian [et al.]. – Text : visual // *BMC Cancer*. – 2015. – Vol. 15, № 1. – P. 940.
240. Jassar, A. TUBAL SCOUTs, STILs, STICs and p53 Signatures: Understanding the new language in ovarian serous carcinoma / A. Jassar, D. Patil. – Text : visual // *Indian J. Obstet. Gynecol. Res.* – 2017. – Vol. 4, № 1. – P. 6–9.
241. Joe, A.W. Concise review: identifying limbal stem cells: classical concepts and new challenges / A. W. Joe, S. N. Yeung. – Text : visual // *Stem Cells Transl. Med.* – 2014. – Vol. 3, № 3. – P. 318–22.
242. Jones, P.A. The epigenomics of cancer / P. A. Jones, S. B. Baylin. – Text : visual // *Cell*. – 2007. – Vol. 128, № 4. – P. 683–92.
243. Kadam, S. Human Fallopian tube as a novel source of multipotent stem cells with potential for islet neogenesis / S. Kadam, S. Patki, R. Bhonde. – Text : visual // *J. Stem Cells Regen. Med.* – 2009. – Vol. 5, № 1. – P. 37–42.
244. Karaayvaz, M. miR-129 promotes apoptosis and enhances chemosensitivity to 5-fluorouracil in colorectal cancer / M. Karaayvaz, H. Zhai, J. Ju. – Text : visual //

Cell Death Dis. – 2013. – Vol. 4, № 6. – P. e659.

245. Karst, A.M. Modeling high-grade serous ovarian carcinogenesis from the fallopian tube / A. M. Karst, K. Levanon, R. Drapkin. – Text : visual // Proc. Natl. Acad. Sci. – 2011. – Vol. 108, № 18. – P. 7547–7552.

246. Kenda, Suster N. Putative stem cells and epithelial-mesenchymal transition revealed in sections of ovarian tumor in patients with serous ovarian carcinoma using immunohistochemistry for vimentin and pluripotency-related markers / N. Kenda Suster, S. Smrkolj, I. Virant-Klun. – Text : visual // J. Ovarian Res. – 2017. – Vol. 10, № 1. – P. 11.

247. Ki-67 and p53 expression of the fallopian tube mucosa in breast cancer patients with hereditary risk / A. Anton, S. Schott, G. Kaip [et al.]. – Text : visual // Arch. Gynecol. Obstet. – 2014. – Vol. 289, № 5. – P. 1079–1085.

248. Ki-67 labeling index as an adjunct in the diagnosis of serous tubal intraepithelial carcinoma / E. Kuhn, R. J. Kurman, A. S. Sehdev, I.-M. Shih. – Text : visual // Int. J. Gynecol. Pathol. – 2012. – Vol. 31, № 5. – P. 416–22.

249. Koc, N. Comparison of the Classical Method and SEE-FIM Protocol in Detecting Microscopic Lesions in Fallopian Tubes with Gynecological Lesions / N. Koc, S. Ayas, S. A. Arinkan. – Text : visual // J. Pathol. Transl. Med. – 2018. – Vol. 52, № 1. – P. 21–27.

250. Koshiyama, M. Recent Concepts of Ovarian Carcinogenesis: Type I and Type II / M. Koshiyama, N. Matsumura, I. Konishi. – Text : visual // Biomed Res. Int. – 2014. – Vol. 2014. – P. 1–11.

251. KRAS (but not BRAF ) mutations in ovarian serous borderline tumour are associated with recurrent low-grade serous carcinoma / Y. T. Tsang, M. T. Deavers, C. C. Sun [et al.]. – Text : visual // J. Pathol. – 2013. – Vol. 231, № 4. – P. 449–456.

252. KRAS and BRAF mutations in ovarian tumors: A comprehensive study of invasive carcinomas, borderline tumors and extraovarian implants / D. Mayr, A. Hirschmann, U. Löhrrs, J. Diebold. – Text : visual // Gynecol. Oncol. – 2006. – Vol. 103, № 3. – P. 883–887.

253. KRAS/BRAF Analysis in Ovarian Low-Grade Serous Carcinoma Having

- Synchronous All Pathological Precursor Regions / K. Nakamura, K. Nakayama, T. Ishibashi [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Mol. Sci.* – 2016. – Vol. 17, № 5. – P. 625.
254. Kurman, R.J. Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer—Shifting the paradigm / R. J. Kurman, I.-M. Shih. – Text : visual // *Hum. Pathol.* – 2011. – Vol. 42, № 7. – P. 918–931.
255. Kurman, R.J. Origin and molecular pathogenesis of ovarian high-grade serous carcinoma / R. J. Kurman. – Text : visual // *Ann. Oncol.* – 2013. – Vol. 24, № 10 (Suppl.). – P. x16–x21.
256. Kurman, R.J. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs / R. J. Kurman. – Geneve: World Health Organization, 2003.– 432 p. – Text : visual.
257. Kurman, R.J. The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis / R. J. Kurman, I.-M. Shih. – Text : visual // *Am. J. Pathol.* – 2016. – Vol. 186, № 4. – P. 733–747.
258. Landen, C.N. Early Events in the Pathogenesis of Epithelial Ovarian Cancer / C. N. Landen, M. J. Birrer, A. K. Sood. – Text : visual // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – Vol. 26, № 6. – P. 995–1005.
259. Landis, J.R. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data / J. R. Landis, G. G. Koch. – Text : visual // *Biometrics.* – 1977. – Vol. 33, № 1. – P. 159.
260. Lessons from BRCA: The Tubal Fimbria Emerges as an Origin for Pelvic Serous Cancer / C. P. Crum, R. Drapkin, D. Kindelberger [et al.]. – Text : visual // *Clin. Med. Res.* – 2007. – Vol. 5, № 1. – P. 35–44.
261. Levanon, K. New Insights Into the Pathogenesis of Serous Ovarian Cancer and Its Clinical Impact / K. Levanon, C. Crum, R. Drapkin. – Text : visual // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – Vol. 26, № 32. – P. 5284–5293.
262. Lgr5 marks stem/progenitor cells in ovary and tubal epithelia / A. Ng, S. Tan, G. Singh [et al.]. – Text : visual // *Nat. Cell Biol.* – 2014. – Vol. 16, № 8. – P. 745–57.
263. Li, Y. Characterization of microRNA expression in serous ovarian

- carcinoma / Y. Li, L. Yao, F. Liu [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Mol. Med.* – 2014. – Vol. 34, № 2. – P. 491–498.
264. Lin, J. The prognostic role of the cancer stem cell marker CD44 in ovarian cancer: a meta-analysis / J. Lin, D. Ding. – Text : visual // *Cancer Cell Int.* – 2017. – Vol. 17, № 1. – P. 8.
265. Long-term Behavior of Serous Borderline Tumors Subdivided Into Atypical Proliferative Tumors and Noninvasive Low-grade Carcinomas: A Population-based Clinicopathologic Study of 942 Cases / R. Vang, C. G. Hannibal, J. Junge [et al.]. – Text : visual // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2017. – Vol. 41, № 6. – P. 725–737.
266. Loss of TGF $\beta$  Signaling Destabilizes Homeostasis and Promotes Squamous Cell Carcinomas in Stratified Epithelia / G. Guasch, M. Schober, H. A. Pasolli [et al.]. – Text : visual // *Cancer Cell.* – 2007. – Vol. 12, № 4. – P. 313–327.
267. Low prevalence of (pre) malignant lesions in the breast and high prevalence in the ovary and Fallopian tube in women at hereditary high risk of breast and ovarian cancer / B. B. J. Hermsen, P. J. van Diest, J. Berkhof [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Cancer.* – 2006. – Vol. 119, № 6. – P. 1412–1418.
268. Ma, B. Crosstalk between Wnt/ $\beta$ -catenin and NF- $\kappa$ B Signaling Pathway during Inflammation / B. Ma, M. O. Hottiger. – Text : visual // *Front. Immunol.* – 2016. – Vol. 7. – P. 378.
269. Marker profile of different phases in the transition of normal human ovarian epithelium to ovarian carcinomas / C. C. van Niekerk, O. C. Boerman, F. C. Ramaekers, L. G. Poels. – Text : visual // *Am. J. Pathol.* – 1991. – Vol. 138, № 2. – P. 455–63.
270. Massagué, J. TGF $\beta$  in Cancer / J. Massagué. – Text : visual // *Cell.* – 2008. – Vol. 134, № 2. – P. 215–230.
271. McNairn, A.J. Epithelial transition zones: merging microenvironments, niches, and cellular transformation / A. J. McNairn, G. Guasch. – Text : visual // *Eur. J. Dermatol.* – 2011. – Vol. 21 (Suppl. 2). – P. 21–8.
272. Medical treatment of early stage and rare histological variants of epithelial ovarian cancer / N. Tomasi Cont, A. Ferrero, F. A. Peccatori [et al.]. – Text : visual

// *Ecance rmedical science*. – 2015. – Vol. 9. – P. 584.

273. Mesenchymal to epithelial transition in the human ovarian surface epithelium focusing on inclusion cysts / S. Okamoto, A. Okamoto, T. Nikaido [et al.]. – Text : visual // *Oncol. Rep.* – 2009. – Vol. 21, № 5. – P. 1209–14.

274. Meserve, E.E.K. Serous tubal intraepithelial neoplasia: the concept and its application / E. E. K. Meserve, J. Brouwer, C. P. Crum. – Text : visual // *Mod. Pathol.* – 2017. – Vol. 30, № 5. – P. 710–721.

275. Mesothelial cells in suspension expose an enriched integrin repertoire capable of capturing soluble fibronectin and laminin / T. F. E. Barth, N. Rinaldi, S. Brüderlein [et al.]. – Text : visual // *Cell Commun. Adhes.* – Vol. 9, № 1. – P. 1–14.

276. Micropapillary serous carcinoma of the ovary has distinct patterns of chromosomal imbalances by comparative genomic hybridization compared with atypical proliferative serous tumors and serous carcinomas / A. Staebler, K. Heselmeyer-Haddad, K. Bell [et al.]. – Text : visual // *Hum. Pathol.* – 2002. – Vol. 33, № 1. – P. 47–59.

277. Microplicae-like structures of the fallopian tube in postmenopausal women as shown by electron microscopy / S. Correr, S. Makabe, R. Heyn [et al.]. – Text : visual // *Histol. Histopathol.* – 2006. – Vol. 21, № 3. – P. 219–26.

278. MicroRNA Expression and Identification of Putative miRNA Targets in Ovarian Cancer / N. Dahiya, C. A. Sherman-Baust, T.-L. Wang [et al.]. – Text : visual // *PLoS One*. – 2008. – Vol. 3, № 6. – P. e2436.

279. MicroRNA profile of paclitaxel-resistant serous ovarian carcinoma based on formalin-fixed paraffin-embedded samples / X. Li, Y. Lu, Y. Chen [et al.]. – Text : visual // *BMC Cancer*. – 2013. – Vol. 13, № 1. – P. 216.

280. MicroRNA Signature Predicts Survival and Relapse in Lung Cancer / S.-L. Yu, H.-Y. Chen, G.-C. Chang [et al.]. – Text : visual // *Cancer Cell*. – 2008. – Vol. 13, № 1. – P. 48–57.

281. Molecular Characterization of 103 Ovarian Serous and Mucinous Tumors / I. Vereczkey, O. Serester, J. Dobos [et al.]. – Text : visual // *Pathol. Oncol. Res.* – 2011. – Vol. 17, № 3. – P. 551–559.

282. Molecular characterization of serous ovarian carcinoma using a multigene next generation sequencing cancer panel approach / N.-S. Ab Mutalib, S. Syafruddin, R. Md Zain [et al.]. – Text : visual // BMC Res. Notes. – 2014. – Vol. 7, № 1. – P. 805.
283. Moore, S.W. Significance of proliferative epithelial lesions of the uterine tube / S. W. Moore, H. T. Enterline. – Text : visual // Obstet. Gynecol. – 1975. – Vol. 45, № 4. – P. 385–90.
284. Mucosal carcinoma of the fallopian tube coexists with ovarian cancer of serous subtype only: a study of Japanese cases / D. Maeda, S. Ota, Y. Takazawa [et al.]. – Text : visual // Virchows Arch. – 2010. – Vol. 457, № 5. – P. 597–608.
285. Mucosal Proliferations in Completely Examined Fallopian Tubes Accompanying Ovarian Low-grade Serous Tumors / R. J. Wolsky, M. A. Price, C. J. Zaloudek, J. T. Rabban. – Text : visual // Int. J. Gynecol. Pathol. – 2018. – Vol. 37, № 3. – P. 262–274.
286. Müllerian precursor lesions in serous ovarian cancer patients: using the SEE-Fim and SEE-End protocol / M. J. Mingels, M. A. van Ham, I. M. de Kievit [et al.]. – Text : visual // Mod. Pathol. – 2014. – Vol. 27, № 7. – P. 1002–1013.
287. Multistep level sections to detect occult fallopian tube carcinoma in risk-reducing salpingo-oophorectomies from women with BRCA mutations: implications for defining an optimal specimen dissection protocol / J. T. Rabban, E. Krasik, L.-M. Chen [et al.]. – Text : visual // Am. J. Surg. Pathol. – 2009. – Vol. 33, № 12. – P. 1878–85.
288. Mulvany, N.J. Fallopian tube cytology: a histocorrelative study of 150 washings / N. J. Mulvany, M. Arnstein, A. G. Ostör. – Text : visual // Diagn. Cytopathol. – 1997. – Vol. 16, № 6. – P. 483–8.
289. Munakata, S. Incidence of Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma (STIC) by Algorithm Classification in Serous Ovarian Tumor Associated with PAX8 Expression in Tubal Epithelia / S. Munakata, T. Yamamoto. – Text : visual // Int. J. Gynecol. Pathol. – 2015. – Vol. 34, № 1. – P. 9–18.
290. Mutation analysis of papillary tubal hyperplasia associated with ovarian

- atypical proliferative serous tumor and low-grade serous carcinoma / W.-C. Huang, C.-C. Tsai, M.-C. Wei, K.-T. Kuo. – Text : visual // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2013. – Vol. 209, № 2. – P. e6–e8.
291. Mutations in BRAF and KRAS characterize the development of low-grade ovarian serous carcinoma / G. Singer, R. Oldt, Y. Cohen [et al.]. – Text : visual // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2003. – Vol. 95, № 6. – P. 484–6.
292. Mutations of BRAF and KRAS Precede the Development of Ovarian Serous Borderline Tumors / C.-L. Ho, R. J. Kurman, R. Dehari [et al.]. – Text : visual // *Cancer Res.* – 2004. – Vol. 64, № 19. – P. 6915–6918.
293. Na, K. TP53 Mutation Status of Tubo-ovarian and Peritoneal High-grade Serous Carcinoma with a Wild-type p53 Immunostaining Pattern / K. Na, J.-Y. Sung, H.-S. Kim. – Text : visual // *Anticancer Res.* – 2017. – Vol. 37, № 12. – P. 6697–6703.
294. Nishida, N. Detection of serous precursor lesions in resected fallopian tubes from patients with benign diseases and a relatively low risk for ovarian cancer / N. Nishida, F. Murakami, K. Higaki. – Text : visual. – 2016.
295. Nonequivalent Gene Expression and Copy Number Alterations in High-Grade Serous Ovarian Cancers with BRCA1 and BRCA2 Mutations / J. George, K. Alsop, D. Etemadmoghadam [et al.]. – Text : visual // *Clin. Cancer Res.* – 2013. – Vol. 19, № 13. – P. 3474–3484.
296. Noninvasive Visualization of MicroRNA-16 in the Chemoresistance of Gastric Cancer Using a Dual Reporter Gene Imaging System / F. Wang, X. Song, X. Li [et al.]. – Text : visual // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, № 4. – P. e61792.
297. Normal ovarian surface epithelial label-retaining cells exhibit stem/progenitor cell characteristics / P. P. Szotek, H. L. Chang, K. Brennand [et al.]. – Text : visual // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2008. – Vol. 105, № 34. – P. 12469–73.
298. O'Neill C.J. p16 Expression in the Female Genital Tract and Its Value in Diagnosis / C. J. O P. Neill, W. G. McCluggage. – Text : visual // *Adv. Anat. Pathol.* – 2006. – Vol. 13, № 1. – P. 8–15.

299. Öge, T. Does size matter? Retrospective analysis of large gynecologic tumors / T. Öge, E. Öztürk, Ö. T. Yalçın. – Text : visual // *J. Turkish Ger. Gynecol. Assoc.* – 2017. – Vol. 18, № 4. – P. 195–199.
300. Okamura, H. Detailed morphology of human ovarian surface epithelium focusing on its metaplastic and neoplastic capability / H. Okamura, H. Katabuchi. – Text : visual // *Ital. J. Anat. Embryol.* – 2001. – Vol. 106, № 2 (Suppl. 2). – P. 263–76.
301. Olivier, M. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use / M. Olivier, M. Hollstein, P. Hainaut. – Text : visual // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* – 2010. – Vol. 2, № 1. – P. a001008.
302. Opportunistic prophylactic salpingectomy for prevention of ovarian cancer: What do national societies advise? / A. Ntoumanoglou-Schuiki, G. Tomasch, R. Laky [et al.]. – Text : visual // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2018. – Vol. 225. – P. 110–112.
303. Outcome of ovarian cancer after breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers / L. H. Zaaijer, H. C. van Doorn, M. J. E. Mourits [et al.]. – Text : visual // *Br. J. Cancer.* – 2016. – Vol. 115, № 10. – P. 1174–1178.
304. Ovarian borderline tumors in the 2014 WHO classification: evolving concepts and diagnostic criteria. / S. Hauptmann, K. Friedrich, R. Redline, S. Avril. – Text : visual // *Virchows Arch.* – 2017. – Vol. 470, № 2. – P. 125–142.
305. Ovarian Cancer Biomarker Performance in Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial Specimens / D. W. Cramer, R. C. Bast, C. D. Berg [et al.]. – Text : visual // *Cancer Prev. Res.* – 2011. – Vol. 4, № 3. – P. 365–374.
306. Ovarian Cancer Cell Line Panel (OCCP): Clinical Importance of In Vitro Morphological Subtypes / C. M. Beaufort, J. C. A. Helmijr, A. M. Piskorz [et al.]. – Text : visual // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, № 9. – P. e103988.
307. Ovarian cancer epidemiology in the era of collaborative team science / R. A. Cannioto, B. Trabert, E. M. Poole, J. M. Schildkraut. – Text : visual // *Cancer Causes Control.* – 2017. – Vol. 28, № 5. – P. 487.
308. Ovarian Cancer Risk After Salpingectomy: A Nationwide Population-Based

- Study / H. Falconer, L. Yin, H. Gronberg, D. Altman. – Text : visual // JNCI J. Natl. Cancer Inst. – 2015. – Vol. 107, № 2. – P. dju410–dju410.
309. Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial / I. J. Jacobs, U. Menon, A. Ryan [et al.]. – Text : visual // Lancet. – 2016. – Vol. 387, № 10022. – P. 945–956.
310. Ovarian carcinoma in situ with germline BRCA1 mutation and loss of heterozygosity at BRCA1 and TP53 / B. A. Werness, P. Parvatiyar, S. J. Ramus [et al.]. – Text : visual // J. Natl. Cancer Inst. – 2000. – Vol. 92, № 13. – P. 1088–91.
311. Ovarian serous borderline tumors with micropapillary and cribriform patterns: a study of 40 cases and comparison with 44 cases without these patterns / J. H. Eichhorn, D. A. Bell, R. H. Young, R. E. Scully. – Text : visual // Am. J. Surg. Pathol. – 1999. – Vol. 23, № 4. – P. 397–409.
312. Ovarian serous carcinoma: recent concepts on its origin and carcinogenesis / J. Li, O. Fadare, L. Xiang [et al.]. – Text : visual // J. Hematol. Oncol. – 2012. – Vol. 5, № 1. – P. 8.
313. Ovarian surface epithelium at the junction area contains a cancer-prone stem cell niche / A. Flesken-Nikitin, C.-I. Hwang, C.-Y. Cheng [et al.]. – Text : visual // Nature. – 2013. – Vol. 495, № 7440. – P. 241–5.
314. Ovarian Surface Epithelium: Biology, Endocrinology, and Pathology / N. Auersperg, A. S. T. Wong, K.-C. Choi [et al.]. – Text : visual // Endocr. Rev. – 2001. – Vol. 22, № 2. – P. 255–288.
315. Over expression of the cancer stem cell marker CD117 predicts poor prognosis in epithelial ovarian cancer patients: evidence from meta-analysis / B. Yang, X. Yan, L. Liu [et al.]. – Text : visual // Onco. Targets. Ther. – 2017. – Vol. 10. – P. 2951–2961.
316. Ozcan, A. PAX2 and PAX8 Expression in the Ovarian Surface Epithelium and Inclusion Cysts / A. Ozcan, L. D. Truong. – Text : visual // Am. J. Surg. Pathol. – 2012. – Vol. 36, № 7. – P. 1100–1102.
317. p16 as a prognostic indicator in ovarian/tubal high-grade serous carcinoma /

- J. P. Beirne, D. G. McArt, J. A. James [et al.]. – Text : visual // *Histopathology*. – 2016. – Vol. 68, № 4. – P. 615–618.
318. p53 Signature and Serous Tubal In-situ Carcinoma in Cases of Primary Tubal and Peritoneal Carcinomas and Serous Borderline Tumors of the Ovary / K. Leonhardt, J. Einkenkel, S. Sohr [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2011. – Vol. 30, № 5. – P. 417–424.
319. Pan, G. Nanog and transcriptional networks in embryonic stem cell pluripotency / G. Pan, J. A. Thomson. – Text : visual // *Cell Res.* – 2007. – Vol. 17, № 1. – P. 42–49.
320. Papillary tubal hyperplasia: the putative precursor of ovarian atypical proliferative (borderline) serous tumors, noninvasive implants, and endosalpingiosis / R. J. Kurman, R. Vang, J. Junge [et al.]. – Text : visual // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2011. – Vol. 35, № 11. – P. 1605–14.
321. Parte, S.C. Characterization of stem cell and cancer stem cell populations in ovary and ovarian tumors / S. C. Parte, S. K. Batra, S. S. Kakar. – Text : visual // *J. Ovarian Res.* – 2018. – Vol. 11, № 1. – P. 69.
322. Patarroyo, M. Laminin isoforms in tumor invasion, angiogenesis and metastasis / M. Patarroyo, K. Tryggvason, I. Virtanen. – Text : visual // *Semin. Cancer Biol.* – 2002. – Vol. 12, № 3. – P. 197–207.
323. Patterns of gene expression in different histotypes of epithelial ovarian cancer correlate with those in normal fallopian tube, endometrium, and colon / R. T. Marquez, K. A. Baggerly, A. P. Patterson [et al.]. – Text : visual // *Clin. Cancer Res.* – 2005. – Vol. 11, № 17. – P. 6116–26.
324. PAX2: A Novel Müllerian Marker for Serous Papillary Carcinomas to Differentiate From Micropapillary Breast Carcinoma / M. Chivukula, D. J. Dabbs, S. O'Connor, R. Bhargava. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2009. – Vol. 28, № 6. – P. 570–578.
325. PAX2 function, regulation and targeting in fallopian tube-derived high-grade serous ovarian cancer / D. A. Modi, R. D. Tagare, S. Karthikeyan [et al.]. – Text : visual // *Oncogene*. – 2017. – Vol. 36, № 21. – P. 3015–3024.

326. PAX2-null secretory cell outgrowths in the oviduct and their relationship to pelvic serous cancer / C. M. Quick, G. Ning, J. Bijron [et al.]. – Text : visual // *Mod. Pathol.* – 2012. – Vol. 25, № 3. – P. 449–455.
327. Pearton, D.J. Transdifferentiation of corneal epithelium into epidermis occurs by means of a multistep process triggered by dermal developmental signals / D. J. Pearton, Y. Yang, D. Dhouailly. – Text : visual // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2005. – Vol. 102, № 10. – P. 3714–9.
328. Performance of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Ovarian Tumor Referral Guidelines With a Multivariate Index Assay / R. W. Miller, A. Smith, C. P. DeSimone [et al.]. – Text : visual // *Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 117, № 6. – P. 1298–1306.
329. Phillips, V. Increased p16 Expression in High-grade Serous and Undifferentiated Carcinoma Compared With Other Morphologic Types of Ovarian Carcinoma / V. Phillips, P. Kelly, W. G. McCluggage. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2009. – Vol. 28, № 2. – P. 179–186.
330. Plasma miRNAs as Diagnostic and Prognostic Biomarkers for Ovarian Cancer / H. Zheng, L. Zhang, Y. Zhao [et al.]. – Text : visual // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, № 11. – P. e77853.
331. Population BRCA1 and BRCA2 Mutation Frequencies and Cancer Penetrances: A Kin-Cohort Study in Ontario, Canada / H. A. Risch, J. R. McLaughlin, D. E. C. Cole [et al.]. – Text : visual // *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* – 2006. – Vol. 98, № 23. – P. 1694–1706.
332. Positive correlations of Oct-4 and Nanog in oral cancer stem-like cells and high-grade oral squamous cell carcinoma / S.-H. Chiou, C.-C. Yu, C.-Y. Huang [et al.]. – Text : visual // *Clin. Cancer Res.* – 2008. – Vol. 14, № 13. – P. 4085–95.
333. Potentiation of cell invasion and matrix metalloproteinase production by  $\alpha\beta 1$  integrin-mediated adhesion of gastric carcinoma cells to laminin-5 / Y. Saito, W. Sekine, R. Sano [et al.]. – Text : visual // *Clin. Exp. Metastasis.* – 2010. – Vol. 27, № 4. – P. 197–205.
334. Prat, J. FIGO's staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube,

- and peritoneum: abridged republication / J. Prat; FIGO Committee on Gynecologic Oncology. – Text : visual // J. Gynecol. Oncol. – 2015. – Vol. 26, № 2. – P. 87.
335. Prat, J. Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features / J. Prat. – Text : visual // Virchows Arch. – 2012. – Vol. 460, № 3. – P. 237–249.
336. Prat, J. Pathology of borderline and invasive cancers / J. Prat. – Text : visual // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. – 2017. – Vol. 41. – P. 15–30.
337. Precursor Lesions of High-Grade Serous Ovarian Carcinoma: Morphological and Molecular Characteristics / A. L. Gross, R. J. Kurman, R. Vang [et al.]. – Text : visual // J. Oncol. – 2010. – Vol. 2010. – P. 1–9.
338. Precursors to pelvic serous carcinoma and their clinical implications / A. K. Folkins, E. A. Jarboe, M. H. Roh, C. P. Crum. – Text : visual // Gynecol. Oncol. – 2009. – Vol. 113, № 3. – P. 391–6.
339. Predictors of occult neoplasia in women undergoing risk-reducing salpingo-oophorectomy / J. D. Lamb, R. L. Garcia, B. A. Goff [et al.]. – Text : visual // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2006. – Vol. 194, № 6. – P. 1702–1709.
340. Preoperative assessment of unilocular adnexal cysts by transvaginal ultrasonography: A comparison between ultrasonographic morphologic imaging and histopathologic diagnosis / E. Ekerhovd, H. Wienerroith, A. Staudach, S. Granberg. – Text : visual // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2001. – Vol. 184, № 2. – P. 48–54.
341. Primary ex vivo cultures of human fallopian tube epithelium as a model for serous ovarian carcinogenesis / K. Levanon, V. Ng, H. Y. Piao [et al.]. – Text : visual // Oncogene. – 2010. – Vol. 29, № 8. – P. 1103–1113.
342. Primary Fallopian Tube Malignancies in BRCA -Positive Women Undergoing Surgery for Ovarian Cancer Risk Reduction / M. J. Callahan, C. P. Crum, F. Medeiros [et al.]. – Text : visual // J. Clin. Oncol. – 2007. – Vol. 25, № 25. – P. 3985–3990.
343. Prognostic Significance of p53 Mutation and p53 Overexpression in Advanced Epithelial Ovarian Cancer: A Gynecologic Oncology Group Study / L. Havrilesky, K. M. Darcy, H. Hamdan [et al.]; Gynecologic Oncology Group Study. –

Text : visual // J. Clin. Oncol. – 2003. – Vol. 21, № 20. – P. 3814–3825.

344. Protein Z: A putative novel biomarker for early detection of ovarian cancer / M. R. Russell, M. J. Walker, A. J. K. Williamson [et al.]. – Text : visual // Int. J. Cancer. – 2016. – Vol. 138, № 12. – P. 2984–2992.

345. Proteomic biomarkers in combination with CA 125 for detection of epithelial ovarian cancer using prediagnostic serum samples from the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial / L. E. Moore, R. M. Pfeiffer, Z. Zhang [et al.]. – Text : visual // Cancer. – 2012. – Vol. 118, № 1. – P. 91–100.

346. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Primary Tumors of the Ovary, Fallopian Tube, or Peritoneum / C. of American Pathologists – , 2018. . – Text : visual.

347. Rajavithi-ovarian cancer predictive score (R-OPS): A new scoring system for predicting ovarian malignancy in women presenting with a pelvic mass / M. Yanaranop, J. Tiyayon, S. Siricharoenchai [et al.]. – Text : visual // Gynecol. Oncol. – 2016. – Vol. 141, № 3. – P. 479–484.

348. Reciprocal Interactions between Human Ovarian Surface Epithelial Cells and Adjacent Extracellular Matrix / P. A. Kruk, V.-J. Uitto, J. D. Firth [et al.]. – Text : visual // Exp. Cell Res. – 1994. – Vol. 215, № 1. – P. 97–108.

349. Regulski, M.J. Cellular Senescence: What, Why, and How / M. J. Regulski. – Text : visual // Wounds a Compend. Clin. Res. Pract. – 2017. – Vol. 29, № 6. – P. 168–174.

350. Repertoire of microRNAs in Epithelial Ovarian Cancer as Determined by Next Generation Sequencing of Small RNA cDNA Libraries / S. K. Wyman, R. K. Parkin, P. S. Mitchell [et al.]. – Text : visual // PLoS One. – 2009. – Vol. 4, № 4. – P. e5311.

351. Requirement of Lim1 for female reproductive tract development / A. Kobayashi, W. Shawlot, A. Kania, R. R. Behringer. – Text : visual // Development. – 2004. – Vol. 131, № 3. – P. 539–49.

352. Risk factors for a serous cancer precursor (&quot;p53 signature&quot;) in women with inherited BRCA mutations / A. Saleemuddin, A. K. Folkins, L. Garrett [et

- al.]. – Text : visual // *Gynecol. Oncol.* – 2008. – Vol. 111, № 2. – P. 226–32.
353. Risk-reducing early salpingectomy and delayed oophorectomy as a two-staged alternative for primary prevention of ovarian cancer in women at increased risk: a commentary / F. Gaba, J. Piek, U. Menon, R. Manchanda. – Text : visual // *Familial Cancer.* – 2015. – Vol. 14, Issue 4. – P. 521–530.
354. Risk-reducing salpingectomy with delayed oophorectomy in BRCA1/2 mutation carriers: Patients' and professionals' perspectives / M. Arts-de Jong, M. G. Harmsen, N. Hoogerbrugge [et al.]. – Text : visual // *Gynecol. Oncol.* – 2015. – Vol. 136, № 2. – P. 305–310.
355. Risk-Reducing Salpingo-Oophorectomy in BRCA Mutation Carriers: Role of Serial Sectioning in the Detection of Occult Malignancy / C. B. Powell, E. Kenley, L. Chen [et al.]. – Text : visual // *J. Clin. Oncol.* – 2005. – Vol. 23, № 1. – P. 127–132.
356. Robey, S.S. Epithelial hyperplasia of the fallopian tube. Its association with serous borderline tumors of the ovary / S. S. Robey, E. G. Silva. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 1989. – Vol. 8, № 3. – P. 214–20.
357. Roh, M.H. Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma and the Dominant Ovarian Mass / M. H. Roh, D. Kindelberger, C. P. Crum. – Text : visual // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2009. – Vol. 33, № 3. – P. 376–383.
358. Role of tumor microenvironment in ovarian cancer pathobiology / A. Ghoneum, H. Afify, Z. Salih [et al.]. – Text : visual // *Oncotarget.* – 2018. – Vol. 9, № 32. – P. 22832–22849.
359. Sacks, J. Expression and Function of CD44 in Epithelial Ovarian Carcinoma / J. Sacks, M. Barbolina. – Text : visual // *Biomolecules.* – 2015. – Vol. 5, № 4. – P. 3051–3066.
360. Salpingitis, salpingoliths, and serous tumors of the ovaries: is there a connection? / J. D. Seidman, M. E. Sherman, K. A. Bell [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2002. – Vol. 21, № 2. – P. 101–7.
361. Sama, A.R. Refractory fallopian tube carcinoma - current perspectives in pathogenesis and management. / A. R. Sama, R. J. Schilder. – Text : visual // *Int. J.*

Womens. Health. – 2014. – Vol. 6. – P. 149–57.

362. Sayed, D. MicroRNAs in Development and Disease / D. Sayed, M. Abdellatif. – Text : visual // *Physiol. Rev.* – 2011. – Vol. 91, № 3. – P. 827–887.

363. Scanning electron microscopy of the human fallopian tube / A. Ferenczy, R. M. Richart, F. J. Agate [et al.]. – Text : visual // *Science.* – 1972. – Vol. 175, № 4023. – P. 783–4.

364. Schäfer, M. Transcriptional Control of Wound Repair / M. Schäfer, S. Werner. – Text : visual // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* – 2007. – Vol. 23, № 1. – P. 69–92.

365. Schindler, A.J. LGR5 and LGR6 in stem cell biology and ovarian cancer / A. J. Schindler, A. Watanabe, S. B. Howell. – Text : visual // *Oncotarget.* – 2018. – Vol. 9, № 1. – P. 1346–1355.

366. Schlötzer-Schrehardt, U. Identification and characterization of limbal stem cells / U. Schlötzer-Schrehardt, F. E. Kruse. – Text : visual // *Exp. Eye Res.* – 2005. – Vol. 81, № 3. – P. 247–264.

367. Schmeler, K.M. Low-grade serous ovarian cancer: a unique disease / K. M. Schmeler, D. M. Gershenson. – Text : visual // *Curr. Oncol. Rep.* – 2008. – Vol. 10, № 6. – P. 519–23.

368. Screening for Cervical Cancer Precursors With p16/Ki-67 Dual-Stained Cytology: Results of the PALMS Study / H. Ikenberg, C. Bergeron, D. Schmidt [et al.]; PALMS Study Group. – Text : visual // *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* – 2013. – Vol. 105, № 20. – P. 1550–1557.

369. Scully, R.E. Pathology of ovarian cancer precursors / R.E. Scully. – Text : visual // *J. Cell. Biochem. Suppl.* – 1995. – Vol. 23. – P. 208–18.

370. Secretory cell expansion with aging: Risk for pelvic serous carcinogenesis / J. Li, Y. Ning, N. Abushahin [et al.]. – Text : visual // *Gynecol. Oncol.* – 2013. – Vol. 131, № 3. – P. 555–560.

371. Secretory cell outgrowth, PAX2 and serous carcinogenesis in the Fallopian tube / E. Y. Chen, K. Mehra, M. Mehrad [et al.]. – Text : visual // *J. Pathol.* – 2010. – Vol. 222, № 1. – P. 110–6.

372. Seidman, J.D. Lymphatic Invasion in the Fallopian Tube is a Late Event in the Progression of Pelvic Serous Carcinoma and Correlates With Distant Metastasis / J. D. Seidman, J. Krishnan. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2019. – July 18.
373. Seidman, J.D. Primary peritoneal high-grade serous carcinoma is very likely metastatic from serous tubal intraepithelial carcinoma: Assessing the new paradigm of ovarian and pelvic serous carcinogenesis and its implications for screening for ovarian cancer / J. D. Seidman, P. Zhao, A. Yemelyanova. – Text : visual // *Gynecol. Oncol.* – 2011. – Vol. 120, № 3. – P. 470–473.
374. Seidman, J.D. Serous tubal intraepithelial carcinoma localizes to the tubal-peritoneal junction: a pivotal clue to the site of origin of extrauterine high-grade serous carcinoma (ovarian cancer) / J. D. Seidman. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2015. – Vol. 34, № 2. – P. 112–20.
375. Sensitivity of the cervical transformation zone to estrogen-induced squamous carcinogenesis / D. A. Elson, R. R. Riley, A. Lacey [et al.]. – Text : visual // *Cancer Res.* – 2000. – Vol. 60, № 5. – P. 1267–75.
376. Serous papillary cystadenofibroma of the fallopian tube: A case report and short review of literature / Y. Khatib, R. Patel, A. Kashikar, K. Chavan. – Text : visual // *Indian J. Pathol. Microbiol.* – 2015. – Vol. 58, № 4. – P. 524.
377. Serous tubal intraepithelial carcinoma upregulates markers associated with high-grade serous carcinomas including Rsf-1 (HBXAP), cyclin E and fatty acid synthase / A. S. Sehdev, R. J. Kurman, E. Kuhn, I.-M. Shih. – Text : visual // *Mod. Pathol.* – 2010. – Vol. 23, № 6. – P. 844–55.
378. Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma: Diagnostic Reproducibility and its Implications / J. W. Carlson, E. A. Jarboe, D. Kindelberger [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2010. – Vol. 29, № 4. – P. 310–314.
379. Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma: Its Potential Role in Primary Peritoneal Serous Carcinoma and Serous Cancer Prevention / J. W. Carlson, A. Miron, E. A. Jarboe [et al.]. – Text : visual // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – Vol. 26, № 25. – P. 4160–4165.

380. Serum tumor markers in the management of ovarian, endometrial and cervical cancer / A. Gadducci, S. Cosio, A. Carpi [et al.]. – Text : visual // *Biomed. Pharmacother.* – 2004. – Vol. 58, № 1. – P. 24–38.
381. Sherr, C.J. The RB and p53 pathways in cancer / C. J. Sherr, F. McCormick. – Text : visual // *Cancer Cell.* – 2002. – Vol. 2, № 2. – P. 103–12.
382. Shortened Telomeres in Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma: An Early Event in Ovarian High-grade Serous Carcinogenesis / E. Kuhn, A. Meeker, T.-L. Wang [et al.]. – Text : visual // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2010. – Vol. 34, № 6. – P. 829–836.
383. Should adnexal mass size influence surgical approach? A series of 186 laparoscopically managed large adnexal masses / F. Ghezzi, A. Cromi, V. Bergamini [et al.]. – Text : visual // *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.* – 2008. – Vol. 115, № 8. – P. 1020–1027.
384. Siegel, R.L. Cancer statistics, 2019 / R. L. Siegel, K. D. Miller, A. Jemal. – Text : visual // *CA. Cancer J. Clin.* – 2019. – Vol. 69, № 1. – P. 7–34.
385. Siemens, C.H. Serial propagation of human ovarian surface epithelium in tissue culture / C. H. Siemens, N. Auersperg. – Text : visual // *J. Cell. Physiol.* – 1988. – Vol. 134, № 3. – P. 347–56.
386. Simon Herrington, C. The emerging role of the distal Fallopian tube and p53 in pelvic serous carcinogenesis / C. Simon Herrington, G. McCluggage. – Text : visual // *J. Pathol. J Pathol.* – 2010. – Vol. 220. – P. 5–6.
387. Siraj, S.H.M. Salpingectomy and prevention of ovarian carcinoma / S. H. M. Siraj, B. S. M. Chern. – Text : visual // *Gynecol. Minim. Invasive Ther.* – 2016. – Vol. 5, № 3. – P. 102–105.
388. Skates, S.J. Ovarian cancer screening: development of the risk of ovarian cancer algorithm (ROCA) and ROCA screening trials / S. J. Skates. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2012. – Vol. 22 (Suppl 1.). – P. S24-6.
389. Sousae ,Melo F. de. Wnt Signaling in Cancer Stem Cell Biology / F. de Sousae Melo, L. Vermeulen. – Text : visual // *Cancers (Basel).* – 2016. – Vol. 8, № 7. – P. 60.
390. Specific activation of microRNA-127 with downregulation of the proto-

- oncogene BCL6 by chromatin-modifying drugs in human cancer cells / Y. Saito, G. Liang, G. Egger [et al.]. – Text : visual // *Cancer Cell*. – 2006. – Vol. 9, № 6. – P. 435–443.
391. Spontaneous malignant transformation of human ovarian surface epithelial cells in vitro / L. Gregoire, R. Rabah, E. M. Schmelz [et al.]. – Text : visual // *Clin. Cancer Res*. – 2001. – Vol. 7, № 12. – P. 4280–7.
392. Squamous cell carcinoma of the conjunctiva: a series of 26 cases / P. A. McKelvie, M. Daniell, A. McNab [et al.]. – Text : visual // *Br. J. Ophthalmol*. – 2002. – Vol. 86, № 2. – P. 168–73.
393. Stathmin 1 and p16INK4A are sensitive adjunct biomarkers for serous tubal intraepithelial carcinoma / M. Novak, J. Lester, A. M. Karst [et al.]. – Text : visual // *Gynecol. Oncol*. – 2015. – Vol. 139, № 1. – P. 104–111.
394. Stathmin 1, a marker of PI3K pathway activation and regulator of microtubule dynamics, is expressed in early pelvic serous carcinomas / A.M. Karst, K. Levanon, S. Duraisamy [et al.]. – Text : visual // *Gynecol. Oncol*. – 2011. – Vol. 123, № 1. – P. 5–12.
395. Stathmin regulates mutant p53 stability and transcriptional activity in ovarian cancer / M. Sonogo, M. Schiappacassi, S. Lovisa [et al.]. – Text : visual // *EMBO Mol. Med*. – 2013. – Vol. 5, № 5. – P. 707–22.
396. Stem and progenitor-like cells contribute to the aggressive behavior of human epithelial ovarian cancer / S. A. Bapat, A. M. Mali, C. B. Koppikar, N. K. Kurrey. – Text : visual // *Cancer Res*. – 2005. – Vol. 65, № 8. – P. 3025–9.
397. Stem-Like Epithelial Cells Are Concentrated in the Distal End of the Fallopian Tube: A Site for Injury and Serous Cancer Initiation / D. Y. Paik, D. M. Janzen, A. M. Schafenacker [et al.]. – Text : visual // *Stem Cells*. – 2012. – Vol. 30, № 11. – P. 2487–2497.
398. STICS, SCOUTs and p53 signatures; a new language for pelvic serous carcinogenesis / K. Mehra, M. Mehrad, G. Ning [et al.]. – Text : visual // *Front. Biosci. (Elite Ed)*. – 2011. – Vol. 3. – P. 625–34.
399. Survival for Ovarian Cancer in Europe: The across-country variation did not

shrink in the past decade / W. Oberaigner, P. Minicozzi, M. Bielska-Lasota [et al.]; Eurocare Working Group. – Text : visual // *Acta Oncol. (Madr)*. – 2012. – Vol. 51, № 4. – P. 441–453.

400. The alpha(2)beta(1) and alpha(3)beta(1) integrins do not mediate attachment of endometrial cells to peritoneal mesothelium / C.A. Witz, S. Cho, I.A. Montoya-Rodriguez, R. S. Schenken. – Text : visual // *Fertil. Steril*. – 2002. – Vol. 78, № 4. – P. 796–803.

401. The biological and clinical value of p53 expression in pelvic high-grade serous carcinomas / M. Köbel, A. Reuss, A. du Bois [et al.]. – Text : visual // *J. Pathol*. – 2010. – Vol. 222, № 2. – P. 191–198.

402. The characteristic ultrasound features of specific types of ovarian pathology (review) / A. Sayasneh, C. Ekechi, L. Ferrara [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Oncol*. – 2015. – Vol. 46, № 2. – P. 445–58.

403. The conceptual advances of carcinogenic sequence model in high-grade serous ovarian cancer / H. Kobayashi, K. Iwai, E. Niino [et al.]. – Text : visual // *Biomed. reports*. – 2017. – Vol. 7, № 3. – P. 209–213.

404. The cost-effectiveness of opportunistic salpingectomy versus standard tubal ligation at the time of cesarean delivery for ovarian cancer risk reduction / A. Subramaniam, B. D. Einerson, C. T. Blanchard [et al.]. – Text : visual // *Gynecol. Oncol*. – 2019. – Vol. 152, № 1. – P. 127–132.

405. The detection of differentially expressed microRNAs from the serum of ovarian cancer patients using a novel real-time PCR platform / K. E. Resnick, H. Alder, J. P. Hagan [et al.]. – Text : visual // *Gynecol. Oncol*. – 2009. – Vol. 112, № 1. – P. 55–59.

406. The Diagnostic and Biological Implications of Laminin Expression in Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma / E. Kuhn, R. J. Kurman, R. A. Soslow [et al.]. – Text : visual // *Am. J. Surg. Pathol*. – 2012. – Vol. 36, № 12. – P. 1826–1834.

407. The distal fallopian tube: a new model for pelvic serous carcinogenesis / C. P. Crum, R. Drapkin, A. Miron [et al.]. – Text : visual // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol*. – 2007. – Vol. 19, № 1. – P. 3–9.

408. The extracellular matrix of ovarian cortical inclusion cysts modulates invasion of fallopian tube epithelial cells / A. J. Fleszar, A. Walker, V. Porubsky [et al.]. – Text : visual // *APL Bioeng.* – 2018. – Vol. 2, № 3. – P. 031902.
409. The fallopian tube, “precursor escape” and narrowing the knowledge gap to the origins of high-grade serous carcinoma / T. R. Soong, B. E. Howitt, N. Horowitz [et al.]. – Text : visual // *Gynecol. Oncol.* – 2019. – Vol. 152, № 2. – P. 426–433.
410. The Fallopian Tube-Peritoneal Junction / J. D. Seidman, A. Yemelyanova, R. J. Zaino, R. J. Kurman. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2011. – Vol. 30, № 1. – P. 4–11.
411. The LIM homeobox gene *Lhx9* is essential for mouse gonad formation / O. S. Birk, D. E. Casiano, C. A. Wassif [et al.]. – Text : visual // *Nature.* – 2000. – Vol. 403, № 6772. – P. 909–913.
412. The MicroRNA Spectrum in 12 Body Fluids / J. A. Weber, D. H. Baxter, S. Zhang [et al.]. – Text : visual // *Clin. Chem.* – 2010. – Vol. 56, № 11. – P. 1733–1741.
413. The molecular pathogenesis of hereditary ovarian carcinoma: alterations in the tubal epithelium of women with *BRCA1* and *BRCA2* mutations / B. M. Norquist, R. L. Garcia, K. H. Allison [et al.]. – Text : visual // *Cancer.* – 2010. – Vol. 116, № 22. – P. 5261–71.
414. The Ovary Is an Alternative Site of Origin for High-Grade Serous Ovarian Cancer in Mice / J. Kim, D. M. Coffey, L. Ma, M. M. Matzuk. – Text : visual // *Endocrinology.* – 2015. – Vol. 156, № 6. – P. 1975–1981.
415. The *PAX2*-null immunophenotype defines multiple lineages with common expression signatures in benign and neoplastic oviductal epithelium / G. Ning, J. G. Bijron, Y. Yamamoto [et al.]. – Text : visual // *J. Pathol.* – 2014. – Vol. 234, № 4. – P. 478–87.
416. The prognostic value of *HER2* in ovarian cancer: A meta-analysis of observational studies / H. Luo, X. Xu, M. Ye [et al.]. – Text : visual // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13, № 1. – P. e0191972.
417. The prognostic value of *Ki67* in ovarian high-grade serous carcinoma: an 11-

- year cohort study of Chinese patients / M. Chen, S. Yao, Q. Cao [et al.]. – Text : visual // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, № 64. – P. 107877–107885.
418. The rare nonsense mutation in p53 triggers alternative splicing to produce a protein capable of inducing apoptosis / E. M. Makarov, T. A. Shtam, R.A. Kovalev [et al.]. – Text : visual // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12, № 9. – P. e0185126.
419. The Significance of p53 and K-ras Immunocytochemical Staining in the Diagnosis of Malignant Biliary Obstruction by Brush Cytology during ERCP / Y. S. Kim, H. G. Kim, J. Han [et al.]. – Text : visual // *Gut Liver*. – 2010. – Vol. 4, № 2. – P. 219–225.
420. The tubal fimbria is a preferred site for early adenocarcinoma in women with familial ovarian cancer syndrome / F. Medeiros, M. G. Muto, Y. Lee [et al.]. – Text : visual // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2006. – Vol. 30, № 2. – P. 230–6.
421. The Tumor Microenvironment of High Grade Serous Ovarian Cancer / M. Stack, K. Nephew, J. Burdette, A. K. Mitra. – Text : visual // *Cancers (Basel)*. – 2018. – Vol. 11, № 1. – P. 21.
422. The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass / R. G. Moore, A. K. Brown, M. C. Miller [et al.]. – Text : visual // *Gynecol. Oncol.* – 2008. – Vol. 108, № 2. – P. 402–408.
423. Time to incorporate germline multigene panel testing into breast and ovarian cancer patient care / R. Graffeo, L. Livraghi, O. Pagani [et al.]. – Text : visual // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2016. – Vol. 160, № 3. – P. 393–410.
424. Tjalma, W.A.A. Diagnostic performance of dual-staining cytology for cervical cancer screening: A systematic literature review / W. A. A. Tjalma. – Text : visual // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2017. – Vol. 210. – P. 275–280.
425. Tone, A.A. Taking the Tube / A. A. Tone. – Text : visual // *Clin. Obstet. Gynecol.* – 2017. – Vol. 60, № 4. – P. 697–710.
426. TP53 mutations in epithelial ovarian cancer / Y. Zhang, L. Cao, D. Nguyen, H. Lu. – Text : visual // *Transl. Cancer Res.* – 2016. – Vol. 5, № 6. – P. 650–663.
427. TP53 mutations in high grade serous ovarian cancer and impact on clinical outcomes: a comparison of next generation sequencing and bioinformatics analyses /

- V. Mandilaras, S. Garg, M. Cabanero [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2019. – ijgc-2018-000087.
428. TP53 mutations in serous tubal intraepithelial carcinoma and concurrent pelvic high-grade serous carcinoma-evidence supporting the clonal relationship of the two lesions / E. Kuhn, R. J. Kurman, R. Vang [et al.]. – Text : visual // *J. Pathol.* – 2012. – Vol. 226, № 3. – P. 421–426.
429. Transformation zone location and intraepithelial neoplasia of the cervix uteri / P. Autier, M. Coibion, F. Huet, A. R. Grivegnee. – Text : visual // *Br. J. Cancer.* – 1996. – Vol. 74, № 3. – P. 488–90.
430. Transitional cell metaplasia of fallopian tube fimbriae: a potential mimic of early tubal carcinoma in risk reduction salpingo-oophorectomies from women With BRCA mutations / J. T. Rabban, B. Crawford, L.-M. Chen [et al.]. – Text : visual // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2009. – Vol. 33, № 1. – P. 111–9.
431. Tubal origin of ‘ovarian’ low-grade serous carcinoma / J. Li, N. Abushahin, S. Pang [et al.]. – Text : visual // *Mod. Pathol.* – 2011. – Vol. 24, № 11. – P. 1488–1499.
432. Tumor suppressor p53 is required to modulate BRCA1 expression / P. Arizti, L. Fang, I. Park [et al.]. – Text : visual // *Mol. Cell. Biol.* – 2000. – Vol. 20, № 20. – P. 7450–9.
433. Use of a monoclonal anti-estrogen receptor antibody in the immunohistochemical evaluation of human tumors / K. S. McCarty, E. Szabo, J. L. Flowers [et al.]. – Text : visual // *Cancer Res.* – 1986. – Vol. 46, № 8 (Suppl.). – P. 4244s-4248s.
434. Validation of an Algorithm for the Diagnosis of Serous Tubal Intraepithelial Carcinoma / R. Vang, K. Visvanathan, A. Gross [et al.]. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2012. – Vol. 31, № 3. – P. 243–253.
435. Value of mesothelial and epithelial antibodies in distinguishing diffuse peritoneal mesothelioma in females from serous papillary carcinoma of the ovary and peritoneum / R. L. Attanoos, R. Webb, S. D. Dojcinov, A. R. Gibbs. – Text : visual // *Histopathology.* – 2002. – Vol. 40, № 3. – P. 237–44.

436. Vang, R. Fallopian tube precursors of ovarian low- and high-grade serous neoplasms / R. Vang, I.-M. Shih, R. J. Kurman. – Text : visual // *Histopathology*. – 2013. – Vol. 62, № 1. – P. 44–58.
437. Vang, R. Ovarian Low-grade and High-grade Serous Carcinoma / R. Vang, I.-M. Shih, R. J. Kurman. – Text : visual // *Adv. Anat. Pathol.* – 2009. – Vol. 16, № 5. – P. 267–282.
438. VCP/p97, Down-Regulated by microRNA-129-5p, Could Regulate the Progression of Hepatocellular Carcinoma / Y. Liu, Y. Hei, Q. Shu [et al.]. – Text : visual // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, № 4. – P. e35800.
439. Venkitaraman, A.R. Cancer Susceptibility and the Functions of BRCA1 and BRCA2 / A. R. Venkitaraman. – Text : visual // *Cell*. – 2002. – Vol. 108, № 2. – P. 171–182.
440. Virant-Klun, I. Small putative NANOG, SOX2, and SSEA-4-positive stem cells resembling very small embryonic-like stem cells in sections of ovarian tissue in patients with ovarian cancer / I. Virant-Klun, N. Kenda-Suster, S. Smrkolj. – Text : visual // *J. Ovarian Res.* – 2016. – Vol. 9, № 1. – P. 12.
441. Wei, S.U. The diagnostic value of serum HE4 and CA-125 and ROMA index in ovarian cancer / S. U. Wei, H. Li, B. Zhang. – Text : visual // *Biomed. reports*. – 2016. – Vol. 5, № 1. – P. 41–44.
442. Weiss, R.A. Monoclonal antibody analysis of keratin expression in epidermal diseases: a 48- and 56-kdalton keratin as molecular markers for hyperproliferative keratinocytes / R. A. Weiss, R. Eichner, T. T. Sun. – Text : visual // *J. Cell Biol.* – 1984. – Vol. 98, № 4. – P. 1397–406.
443. Westover, D. New trends for overcoming ABCG2/BCRP-mediated resistance to cancer therapies / D. Westover, F. Li. – Text : visual // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* – 2015. – Vol. 34. – P. 159.
444. Wong, A.S.T. Ovarian surface epithelium: family history and early events in ovarian cancer / A. S. T. Wong, N. Auersperg. – Text : visual // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 1, № 1. – P. 70.
445. Yanai-Inbar, I. Mucosal epithelial proliferation of the fallopian tube: a

particular association with ovarian serous tumor of low malignant potential? / I. Yanai-Inbar, S. Siriaunkgul, S. G. Silverberg. – Text : visual // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 1995. – Vol. 14, № 2. – P. 107–13.

446. Zhao, H. Regulatory network involving miRNAs and genes in serous ovarian carcinoma / H. Zhao, H. Xu, L. Xue. – Text : visual // *Oncol. Lett.* – 2017. – Vol. 14, № 5. – P. 6259–6268.

447. Zheng, W. Fallopian tube as main source for ovarian and pelvic (non-endometrial) serous carcinomas / W. Zheng, O. Fadare. – Text : visual // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2012. – Vol. 5, № 3. – P. 182–6.

448. Zhou, Y. Identification of Genes and Pathways Involved in Ovarian Epithelial Cancer by Bioinformatics Analysis / Y. Zhou, O. Layton, L. Hong. – Text : visual // *J. Cancer.* – 2018. – Vol. 9, № 17. – P. 3016–3022.