

На правах рукописи

**АСАТУРОВА**

**Александра Вячеславовна**

**Гиперпластические изменения и  
интраэпителиальные поражения слизистой  
оболочки маточной трубы и их связь с  
морфогенезом серозных опухолей яичника**

14.03.02 – патологическая анатомия

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Москва 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении  
«Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и  
перинатологии имени академика В.И. Кулакова»  
Министерства Здравоохранения Российской Федерации

**Научные консультанты:**

доктор медицинских наук, профессор,  
заслуженный деятель наук

**Кондриков Николай Иванович**

доктор медицинских наук, профессор,  
академик Российской академии наук

**Адамян Лейла Вагоевна**

**Официальные оппоненты:**

**Андреева Юлия Юрьевна** – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации (Москва)

**Раскин Григорий Александрович** – доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии Санкт-Петербургского государственного университета, руководитель отдела патологической анатомии Российского научного центра радиологии и хирургических технологий им. академика А.М. Гранова (Санкт-Петербург),

**Волченко Надежда Николаевна** – доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделом онкоморфологии Московского научно-исследовательского онкологического института им. П. А. Герцена – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Москва)

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (454092, Российская Федерация, Челябинская область, г. Челябинск, ул. Воровского, 64)

Защита состоится \_\_\_\_\_ 2020 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета (Д 001.004.01) Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека» по адресу: 117418, Москва, ул. Цюрупы, д.3

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт морфологии человека» и на сайте <http://www.morfolhum.ru>

Автореферат разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2020 г.

**Ученый секретарь диссертационного совета**

Доктор биологических наук

**Косырева Анна Михайловна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### 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 (**Каприн А.Д., 2018, Siegel R., 2018**). 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% (**Kurman R., 2013**). 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 (**Kurman R. 2016**). 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 сальпингоовариэктомии 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) (**Lamb J., 2006**); STIC значительно чаще встречается при серозных карциномах высокой степени злокачественности, чем при других гистологических вариантах карцином яичника (**Roh M., 2009**); 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 (Kuhn E., 2010).

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 (Auersperg N., 2011, 2013), верификация неопластических изменений поверхностного эпителия яичника в непосредственной близости к HGSC (Scully R., 1995), возможность неопластической трансформации поверхностного эпителия яичника, показанная в эксперименте (Connolly D., 2003). 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 (Kurman R., 2011, Munakata S., 2015). 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 (Vang R., 2012), 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 (Lum D., 2014), 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 (Dahiya N., 2008, Zheng H., 2013). 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 (Wang W., 2016, Schoofs N., 2017). Однако большинство работ, посвященных данной теме, ограничены исследованиями только парафимбриальной переходной зоны (Seidman J., 2015, Schmoeckel E., 2017), не учитывающими морфологические особенности других переходных областей. Кроме того, экспрессия маркеров прогениторных клеток в данных областях изучена лишь фрагментарно (Auersperg N., 2013, Parte S., 2018).

Таким образом, в настоящее время предложены алгоритмы диагностики гиперпластических изменений эндосальпинкса (Kurman R., 2011), а также интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы (Vang R., 2012), 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 (**Falconer H., 2015, Seidman J., 2016**).

**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 клинко-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, bcl-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 трубу 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 непрерывных цепочек 10 секреторных клеток, SCOUT – количество непрерывных цепочек 30 секреторных клеток в маточных трубах, 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 bcl-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 (ESPA) (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 343 зарубежных.

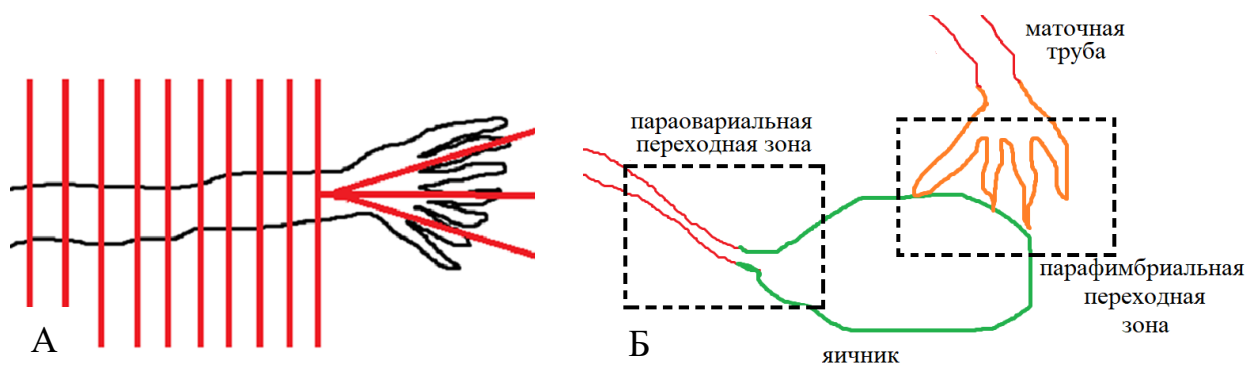
## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы:**

Исследование выполнено на операционном материале от 370 больных, включая 100 – с карциномами яичника (80 – HGSC и 20 – другие гистотипы злокачественных эпителиальных опухолей), 83 – с серозными пограничными опухолями яичника, 85 – с доброкачественными серозными цистаденомами/цистаденофибромами яичника и 102 пациентки с внеовариальными патологическими изменениями (лейомиомой тела матки и аденомиозом). Все больные были прооперированы в хирургических отделениях ФГБУ «НМИЦ АГП им.В.И. Кулакова» с 2011 по 2016 годы. Средний возраст пациенток составил  $45,5 \pm 14,0$  лет. Все пациентки с сохраненным менструальным циклом были прооперированы в фазу пролиферации менструального цикла. Из удаленных маточных труб для исследования были взяты 3-15 фрагментов ткани, из которых получали 3-4 ступенчатых среза с интервалом 200 мкм. Всего изучено 618 маточных труб: 118 маточных труб у больных с HGSC, 150 маточных труб – с серозными пограничными опухолями, 153 маточных трубы от пациенток с серозными доброкачественными опухолями, 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. У 25 пациенток с внеовариальной патологией были взяты комплексы тканей, включающие яичниковую связку, яичник и маточную трубу единым блоком.

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. Маточные трубы пациенток (118 маточных труб) с HGSC были исследованы в соответствии модифицированным протоколом тотального исследования маточной трубы (англ. Sectioning and Extensively Examining the Fimbriated End Protocol (SEE-FIM)). Модификация заключалась в отсечении фимбрий маточной трубы от ампулярной ее части на расстоянии 0,5-1 см от воронки маточной трубы для визуализации так называемой переходной области (SEE-FIM протокол предполагает отсечение фимбрий без отступа) (**рис. 1 А**). Пятьсот маточных труб остальных пациенток были взяты на исследование следующим образом: фимбриальный отдел разделен на 2-3 части, отсечен на расстоянии 0,5-1 см от воронки маточной трубы, 1 фрагмент был взят из средней части ампулярного отдела, 1 – из истмической части. Отдельно у 25 пациенток с внеовариальной патологией были исследованы зоны соприкосновения мезотелия брюшины, поверхностного эпителия яичника и слизистой оболочки маточной трубы (**рис.1 Б**)



**Рис. 1.** А. Предложенная модификация SEE-FIM протокола для визуализации трубно-перитонеальной переходной области. Б. Области взятия фрагментов ткани для исследования: параовариальная и парафимбриальная переходные зоны. Типы эпителия выделены: красным цветом – мезотелий брюшины, зеленым – поверхностный эпителий яичника, оранжевым – слизистая оболочка фимбрий маточной трубы.

Для иммуногистохимического исследования использовали моноклональные и поликлональные первичные антитела: супрессоры опухолевого роста p16 (Roche) и p53, рецепторы к эстрогену alpha (ER- $\alpha$ ) и прогестерону A (PgR-A) (Dako), компонент экстрацеллюлярного матрикса laminin-gamma1 (Santa Cruz Biotechnology), онкопротеину stathmin1 (Epitomics), фактору транскрипции PAX2, регулятору апоптоза Bcl2, внутриклеточному кальций-связывающему белку calretinin, маркеру прогениторных клеток NANOG, CD 44, CD117, Oct4 (Cell Marque), LHX9, LGR5 (Merck). Всего исследовано 788 ИГХ-препаратов.

Показатель пролиферации Ki-67 определяли по процентному содержанию

позитивно окрашенных клеток, проводили подсчет 300 клеток, PgR – шкалы H-score (McCarty K.S., 1986). Экспрессию p16, stathmin1, laminin-gamma1, PAX2, calretinin, NANOG, CD 44, CD117, Oct4, LHX9, LGR5 – полуколичественным методом (в баллах, где отсутствие экспрессии соответствовало 0 баллов, слабопозитивная экспрессия – 1, позитивная – 2, выраженная – 3 баллам). Экспрессию p53 оценивали как соответствующую немутантному («дикому») гену *TP53* (при слабопозитивной экспрессии) и мутантному гену *TP53* (при тотально негативной, умеренной и выраженной экспрессии в >75% клеток) (Yemelyanova A., 2011).

**Цитологический метод:** материал для приготовления мазков получали интраоперационно, проводили забор ткани фимбриального отдела маточных труб с помощью урогенитального зонда. Материал сразу же помещали в контейнер с коммерческим концентрирующим раствором, являющимся буферной средой с низким содержанием метанола, мазки готовили на жидкостной системе BD SurePath™ (Бектон Дикинсон Б.В, Нидерланды) (Boucher N.A., 2009). Всего было приготовлено 66 мазков, все мазки имели достаточное количество клеток для оценки в соответствии с рекомендациями E. Rodriguez (2013). Было изучено 26 мазков пациенток с HGSC, 15 – пациенток с серозными пограничными опухолями, 10 – пациенток с серозными доброкачественными опухолями и 14 – пациенток с внеовариальной патологией. В соответствии с критериями А.В, Филатова (2008) определяли следующие характеристики клеток: ядерный полиморфизм, неровность контура ядра, ядрышки, хроматин и внутриядерные включения.

**Иммуноцитохимическое исследование** всех мазков проводили с помощью антител к Ki67 и p16 в виде набора CINtec PLUS (Roche): выраженное ядерное красное окрашивание соответствовало позитивной экспрессии Ki-67, коричневое – позитивной экспрессии p16) (Bergeron C., 2015); в отношении экспрессии p53 и bcl-2 антитела и способы оценки реакций были аналогичными с таковыми при иммуногистохимическом исследовании. Всего оценено 20 иммуноцитохимических препарата.

Для диагностирования гиперпластических и интраэпителиальных изменений эндосальпинкса маточных труб использовали алгоритм, рекомендованный R. Vang (2012) с двухэтапной оценкой препаратов, а именно первоначально морфологическое исследование срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, с последующим иммуногистохимическим исследованием экспрессии Ki-67 и p53.

**Оценку мутаций в генах BRCA1/2** проводили с использованием срезов с парафиновых блоков (образцы опухолевой ткани HGSC и миометрия от 80 пациенток), применяли набор 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).

**Метод оценки экспрессии мкРНК:** образцы ткани неизменных яичников (от пациенток с доброкачественной внеовариальной патологией), фимбриального отдела маточной трубы и опухолевой ткани серозной доброкачественной опухоли, серозной пограничной опухоли и HGSC (всего 36 образцов) использовали для выделения РНК (с помощью набора для выделения Qiagen). Оценку качества РНК производили с помощью Nano6000, Agilent, далее создавали кДНК-библиотеки мкРНК с последующим глубоким секвенированием на платформе NextSeq (Illumina) и проводили аннотирование мкРНК (miRBase). Сопоставление профилей экспрессии мкРНК в опухолях яичников и фимбриальном отделе маточных труб осуществляли с использованием программы Encode). На основании полученных данных проводили поиск генов-мишеней мкРНК для понимания патогенеза поражения и разработки таргетной терапии (база данных Cytoscape). Для подтверждения полученных данных использовалась методика, аналогичная методу N. Saunders (2004), 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.

**Статистическую обработку данных** проводили с использованием программы 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 SCE и SCOUT от возраста пациенток изучали с помощью метода парной линейной регрессии с оценкой тесноты корреляционной связи по коэффициенту Пирсона. Для разработки прогностической модели, позволяющей определить риск серозных карцином в зависимости от различных факторов, использовали 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 ( $\kappa$ ) по формуле:

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

$D = (1/N) \cdot \sum_{i=1}^n X_{ii}$ , то есть сумма частот по диагонали, деленная на общее количество наблюдений (чистая согласованность), а  $P = (1/N^2) \cdot \sum_{i=1}^n X_i \cdot X_i$ , а именно сумма попарных

произведений сумм по столбцу и по строке с одним и тем же номером, деленная 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  $k > 0,81$  (Landis J., 1977).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

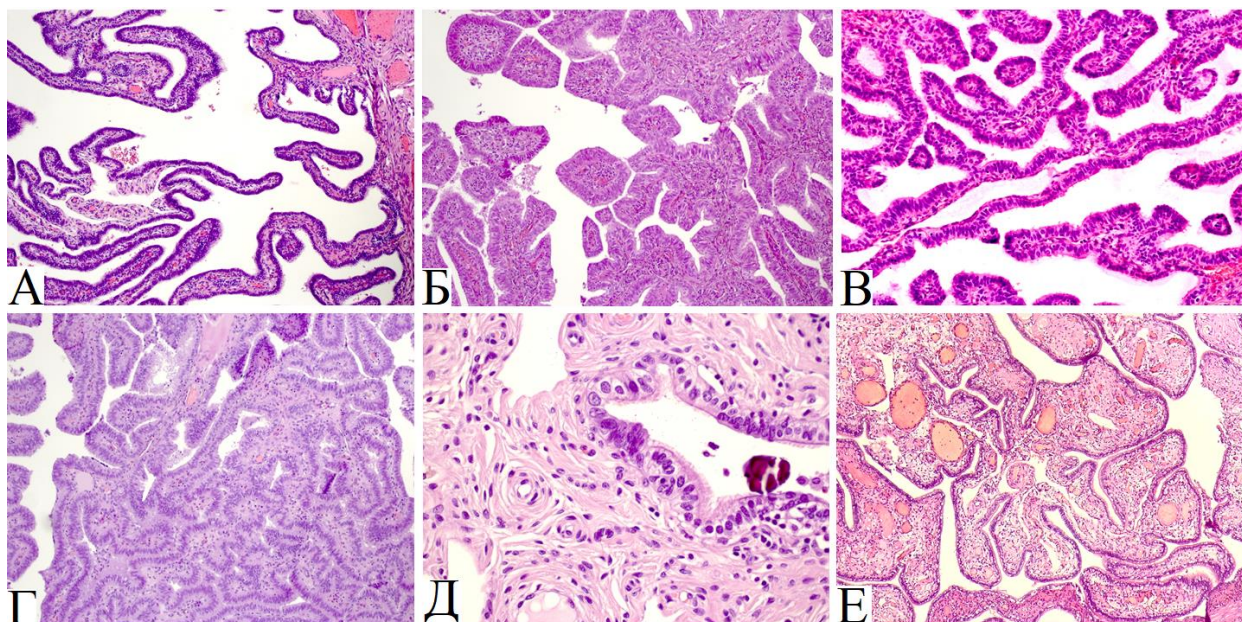
### *Клиническая характеристика пациенток*

У больных, прооперированных в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России», наиболее распространенными эпителиальными опухолями яичников среди доброкачественных и злокачественных новообразований были серозные опухоли, среди карцином – серозные карциномы высокой степени злокачественности. Схожая структура эпителиальных опухолей яичника отмечается и в России, и в странах Западной Европы и США (Cnnioto R., 2017, Каприн А.Д., 2018). При гинекологическом исследовании, а также УЗИ органов малого таза статистически значимые различия размеров опухолей при HGSC, серозных пограничных опухолях и доброкачественных серозных опухолях яичников отсутствовали ( $0,5 \leq p \leq 0,9$ ), что совпадает с данными отечественных и зарубежных исследований (Gallego-Ortiz C., 2016, Oge T., 2017, Ефимова О.А., 2018,). При определении онкомаркера СА-125 в сыворотке крови статистически значимая разница была отмечена лишь при сравнении больных с HGSC и доброкачественными серозными опухолями яичников ( $p = 0,004$ ), что свидетельствует о слабом клиническом значении данного маркера в качестве диагностического, возможно, в связи с тем, что группа HGSC в основном состояла из больных с поздними клиническими стадиями рака яичников. Достоверной разницы при сравнении показателей этого маркера между пациентками с серозными пограничными и доброкачественными серозными опухолями яичников не выявлено ( $p = 0,26$ ). Таким образом, нами показано, что применение СА-125 для ранней и дифференциальной диагностики рака яичников нецелесообразно. Следует отметить, что в нескольких крупных популяционных исследованиях, посвященных алгоритмам скрининга рака яичников, было установлено, что использование в качестве скринингового метода определения уровня СА 125 как в моно-режиме, так и в комбинации с другими маркерами не приводит к снижению смертности от рака яичников (Skates S., 2017, Cortesi L, 2017, Henderson JT, 2018). Из анализа клинических данных можно заключить, что специфические клинические симптомы для злокачественных новообразований яичников отсутствуют, а использование доступных методик скрининга не эффективно. Следовательно, необходима разработка новых способов ранней диагностики и других подходов к скринингу серозных карцином яичников.



*Морфологические, цитологическая, иммуногисто – и цитохимические особенности гиперпластических изменений и интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы у больных с серозными опухолями яичников*

*Гиперпластические изменения эндосальпинкса (ГИЭ):* Согласно данным литературы, термин «гиперплазия эндосальпинкса» применялся с 1975 года, однако достоверные критерии для верификации этой патологии не были предложены (Moore S., 1975), недостаточно изученным оставался и вопрос о том, действительно ли ГИЭ ассоциирована с серозными пограничными опухолями яичника (Robey S., 1989, Yanai-Inbar I. 1995, Kurman R., 2011). Для верификации ГИЭ при микроскопическом исследовании препаратов маточных труб мы учитывали формирование в складках эндосальпинкса папиллярных выростов в просвет, образованием мелких (со скудной стромой) и более крупных (с обильной стромой) папиллярных структур, компактное расположение складок эндосальпинкса, наличие псаммомных телец (рис. 2).



**Рис 2.** Изменения слизистой оболочки маточной трубы у пациентки с серозной пограничной опухолью яичника: папиллярные выросты в складках эндосальпинкса,  $\times 100$  (А), мелкие (Б) и крупные (В) папиллярные структуры,  $\times 200$ , компактное расположение складок эндосальпинкса,  $\times 100$  (Г), псаммомное тельце (Д),  $\times 400$ . Е. Неизменная слизистая оболочка маточной трубы у пациентки с внеовариальной патологией  $\times 100$ . Окраска гематоксилином и эозином.

Достоверные различия были выявлены и в отношении идентификации компактного расположения складок эндосальпинкса, папиллярных выростов в просвет маточных труб и псаммомных телец в складках эндосальпинкса на стороне опухоли по сравнению с противоположными маточными трубами тех же пациенток и маточными трубами больных

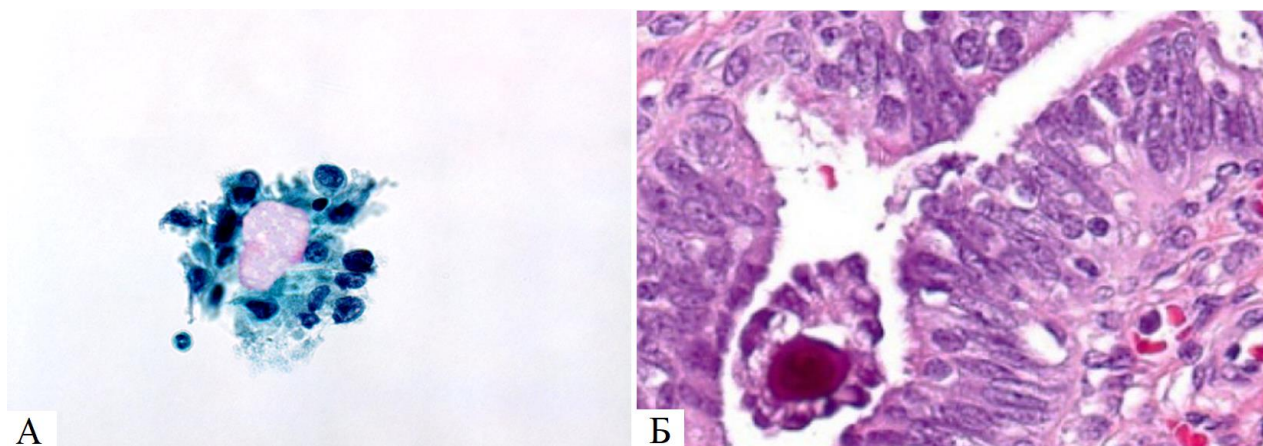


с внеовариальной патологией ( $p < 0,05$ ) (табл.1).

Следует отметить, что наличие псаммомных телец определяли только в маточных трубах на стороне опухоли, в отдельных случаях были верифицированы так называемые сальпинголиты (псаммомные тельца, окружённые эпителиоцитами слизистой оболочки маточной трубы). Эти структурные образования определяли также и при цитологическом исследовании мазков в 20% маточных труб пациенток с серозными пограничными опухолями яичников, и они могут быть одним из цитологических признаков ГИЭ (рис. 3).

Таблица 1. Морфологические признаки гиперпластических изменений эндосальпинкса у пациенток с серозными пограничными опухолями и внеовариальной патологией.

Локализация поражения	Папиллярные выросты в просвет маточной трубы	Мелкие папиллы в просвете маточной трубы	Плотное расположение складок эндосальпинкса	Наличие псаммомных телец
В маточной трубе со стороны опухоли	100,0% (n=96)	73,9% (n=71)	41,6% (n=40)	30,2% (n=29)
В контрлатеральной маточной трубе	85,2% (n=46)	33,3% (n=18)	5,6% (n=3)	0,0% (n=0)
В маточных трубах пациенток с внеовариальной патологией	33,7% (n=55)	15,9% (n=26)	0,0% (n=0)	0,0 (n=0)



**Рис.3.** Сальпинголит в цитологическом мазке (А), окраска по Папаниколау, и гистологическом препарате (Б), окраска гематоксилином и эозином, х400.

При ГИЭ экспрессию иммуногистохимических маркеров оценивали в 40 иммуногистохимических препаратах: экспрессия Ki-67 в эпителиальных клетках составила  $3,0 \pm 1,9\%$ , экспрессия p53 была выраженной – в  $4,0 \pm 2,0\%$ . В эпителиальных клетках

неизмененного эндосальпинкса экспрессия Ki-67 составила  $2,7 \pm 1,3\%$ , экспрессия p53 была выраженной в  $3,3 \pm 1,7\%$ . Достоверно значимых различий в экспрессии данных маркеров между образцами с морфологическими признаками ГИЭ и неизмененным эндосальпинксом не выявлено ( $p > 0,05$ ).

Таким образом, результаты нашего исследования подтвердили, что важными для диагностики ГИЭ являются не только наличие псаммомных телец и папиллярных структур в просвете маточной трубы, необходимость верификации которых подтверждена рядом авторов (Seidman J., 2002, Wolsky R., 2018) и рекомендована для выявления папиллярной гиперплазии маточной трубы классификацией ВОЗ (2014). Помимо данных критериев диагностическое значение имеет выявление компактного расположения складок эндосальпинкса и наличие папиллярных выростов складок слизистой оболочки маточной трубы.

*Интраэпителиальные поражения без фенотипических изменений эпителиоцитов слизистой оболочки маточной трубы*

К таким поражениям относят SCE, SCOUT и p53-signature, которому соответствует SCOUT с умеренной или выраженной экспрессией p53 в  $\geq 75\%$  клеток. Данные наименования и критерии поражений приводятся в литературе (Chen E., 2010, Mehra K., 2011, Soong T., 2019, Norris E., 2019) с указанием на их возможное значение в патогенезе HGSC.

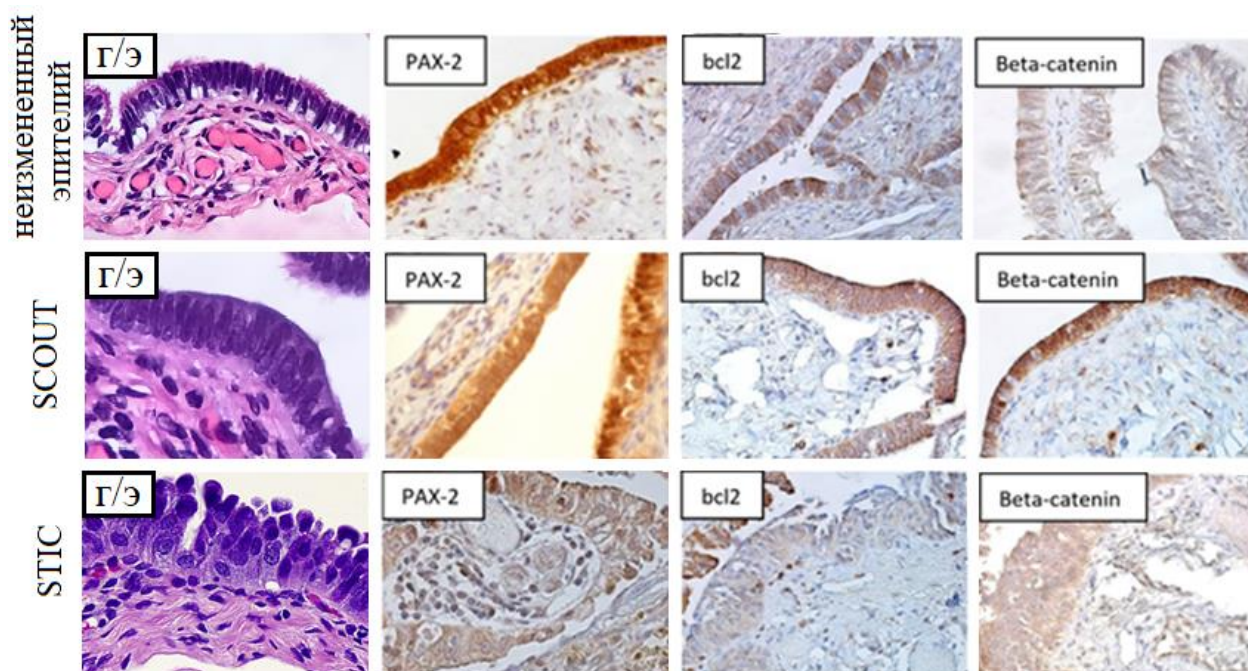
В слизистой оболочке маточной трубе, особенно в области фимбрий, отмечалась значительно большая разница в количестве SCE между больными с внеовариальной патологией и HGSC (в 5,3 раза), чем в количестве SCOUT между ними (в 2 раза), при этом SCE наблюдали чаще, чем SCOUT при всех серозных опухолях и внеовариальной патологии независимо от возраста пациенток. Как SCE, так и SCOUT выявляли преимущественно при HGSC, однако SCE отличался большей чувствительностью по сравнению со SCOUT (в 1,7 раза). Для определения иммунофенотипа SCE и SCOUT было проведено исследование экспрессии фактора транскрипции PAX2, регулятора апоптоза bcl-2 и регулятора клеточной адгезии и генной транскрипции  $\beta$ -catenin (рис.5). При этом большинство SCE и SCOUT характеризовались отсутствием экспрессии PAX2 и выраженной экспрессией bcl-2. Исключение составили 5 PAX2-негативных SCE со слабой экспрессией bcl-2 и 8 PAX2-позитивных SCE, имеющих сильную экспрессию bcl-2. Для экспрессии  $\beta$ -catenin в неизмененном эпителии характерно мембранное окрашивание (от умеренного до сильного), в то время как в области SCE и SCOUT отмечалась выраженная ядерная и цитоплазматическая окраска. Всего было исследовано 75 иммуногистохимических препаратов, экспрессия маркеров в области SCE, SCOUT, STIC и

HGSC представлена на **рис. 4** и в табл. 2. Для подтверждения природы интраэпителиальных поражений была исследована экспрессия p53, при этом лишь 16% SCOUT характеризуется выраженной экспрессией p53 и может быть отнесена к p53-signature.

**Таблица 2.** Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии PAX2, bcl-2 и  $\beta$ -catenin в эпителиальных клетках неизменной слизистой оболочки маточных труб, интраэпителиальных поражений маточной трубы и HGSC, (Me (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>) в баллах)

Маркер	Неизменный эпителий (n=15)	SCE (n=15)	SCOUT (n=15)	STIC (n=15)	HGSC (n=15)	P
	1	2	3	4	5	
PAX-2	3 (3-3)	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (0-1)	P <sub>1-5</sub> <0,001
bcl-2	2 (2-3)	2 (2-3)	2,5 (1-3)	1 (0-1)	0 (0-1)	P <sub>1-4</sub> , P <sub>1-5</sub> , P <sub>2-4</sub> , P <sub>3-4</sub> , P <sub>2-5</sub> , P <sub>3-5</sub> <0,001
$\beta$ -catenin	0 (0-1)	3 (3-3)	3 (3-3)	0 (0-1)	0 (0-1)	P <sub>1-2</sub> , P <sub>1-3</sub> , P <sub>2-4</sub> , P <sub>3-4</sub> , P <sub>2-5</sub> , P <sub>3-5</sub> <0,001

Показатели представлены в виде Me (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>), где Me – медиана, Q<sub>1</sub>-первый квартиль (25%), Q<sub>3</sub> – третий квартиль (75%)



**Рис. 4.** Структурные особенности и иммунофенотип интраэпителиальных поражений маточной трубы при SCOUT и STIC в сравнении с неизменной слизистой оболочки маточной трубы, x 400.

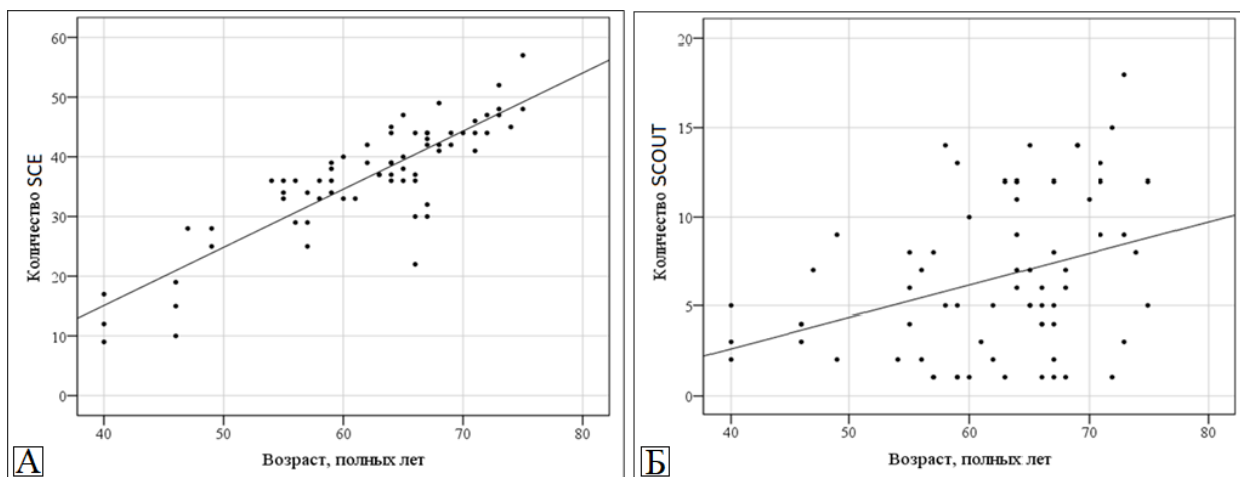
По данным литературы, связь между экспрессией белков PAX2, bcl-2 и p53 противоречива: в ткани почки протеин PAX2 усиливает экспрессию bcl-2 и потенцирует процессы апоптоза (Saifudeen Z., 2017), а в интраэпителиальных поражениях маточной трубы наблюдается обратная зависимость – при отсутствии экспрессии протеина PAX2

наблюдается усиленная экспрессия *bcl-2* (Leonhardt K., 2011, Crum C., 2009). Известно, что неизмененный эпителий маточной трубы имеет высокий уровень экспрессии PAX2, при интраэпителиальных поражениях слизистой оболочки маточной трубы без фенотипических изменений (SCE и SCOUT) наблюдают отсутствие экспрессии протеина PAX2. При возникновении мутации в гене *TP53* в SCOUT отмечают мутантный тип экспрессии p53 (такие SCOUT называют «p53-signature») (Chen E., 2010). Мутантный тип экспрессии p53 выявляют в 16-25% SCOUT. В области p53-signature, также, как и в SCE и SCOUT, экспрессии PAX2 не отмечают, что не позволяет исключить поэтапного развития данных интраэпителиальных поражений маточной трубы (SCE – SCOUT – p53-signature), данная концепция отражена в ряде исследований (Levanon K., 2008, Kurman R., 2013, Gross A., 2010, Reade C., 2014).

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.

#### **Алгоритм определения риска развития HGSC на основании особенностей распределения секреторных клеток слизистой оболочки маточной трубы и возраста пациенток**

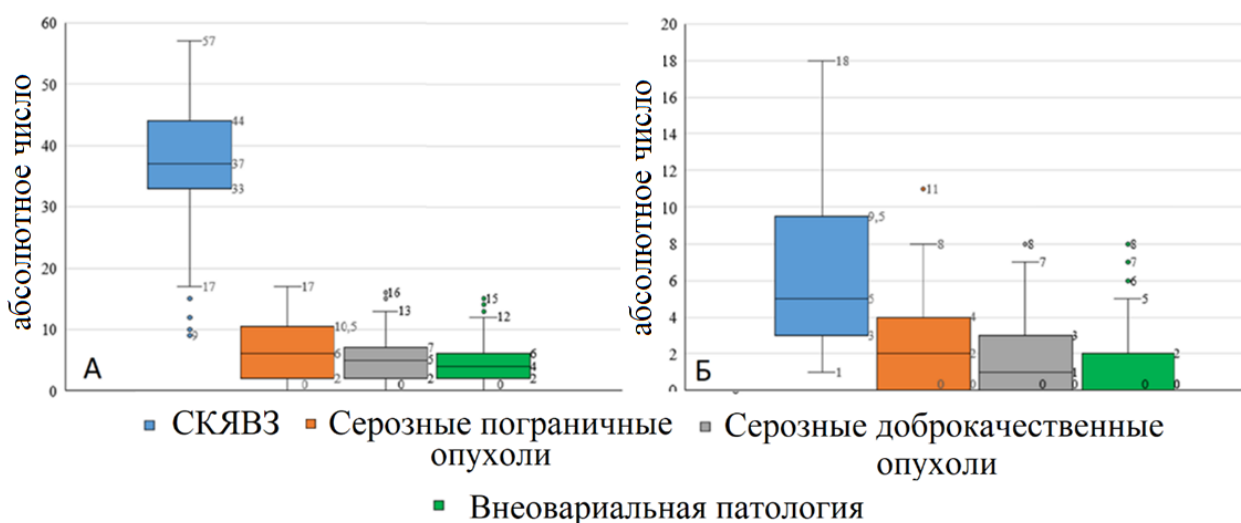
Зависимость количества SCE у пациенток с серозными карциномами яичников от возраста была изучена методом парной линейной регрессии. В результате было получено следующее уравнение –  $SCE = 0,974 * BO3 - 23,84$  (1), в котором SCE – количество SCE в маточных трубах при серозных карциномах яичника, BO3 – возраст женщины (полных лет). Исходя из значения коэффициента регрессии, увеличение возраста на 1 год сопровождается ростом количества SCE на 0,926. Зависимость количества SCOUT от возраста может быть описана следующим уравнением парной линейной регрессии (2) –  $SCOUT = 0,178 * BO3 - 4,535$ , в котором SCOUT – количество SCOUT в маточных трубах при серозных карциномах яичника, BO3 – 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 (рис.5).



**Рис. 5.** Встречаемость SCE (А) и SCOUT (Б) в зависимости от возраста пациенток.

Возможность прогнозирования серозных карцином на основании показателей участков слизистой оболочки маточной трубы, высланных только секреторными клетками, с учетом возраста пациенток, была изучена с помощью метода дискриминантного анализа. При построении прогностической модели использовали метод шагового отбора, в результате в уравнение дискриминантной функции были включены все исследуемые факторы:  $HGSC = 0,22 * SCE + 0,055 * SCOUT - 0,068 * BO3 + 0,72$ , в котором HGSC – дискриминантная функция, характеризующая вероятность серозной карциномы яичника по приведенному ниже алгоритму, SCE – количество SCE в маточных трубах, SCOUT – количество SCOUT в маточных трубах, BO3 – возраст пациентки (полных лет).

Графически статистический анализ встречаемости SCE и SCOUT в зависимости от патологии репродуктивной системы и возраста пациенток представлены на **рис 6**.



**Рис 6.** Статистические данные встречаемости SCE (А) и SCOUT (Б) (в штуках на 1 срез) в зависимости от патологии репродуктивной системы и возраста пациенток



Константа дискриминации, разделяющая исследуемых на две группы, определялась как значение функции  $HGSC = 0,22 * SCE + 0,055 * SCOUT - 0,068 * BO3 + 0,72$ , равноудаленное от центроидов, составивших в группе женщин с серозной карциномой яичника 4,886, при ее отсутствии -1,561. Соответственно, константа дискриминации составила 1,663. Таким образом, при значении функции HGSC более 1,663 женщину следует относить к группе высокого риска серозных карцином яичника, при значении функции менее 1,663 – к группе низкого риска. Статистическая значимость различий дискриминантной функции в обеих группах подтверждалась значением коэффициента  $\lambda$  Уилкса, составившим 0,115 при уровне значимости  $p < 0,001$ .

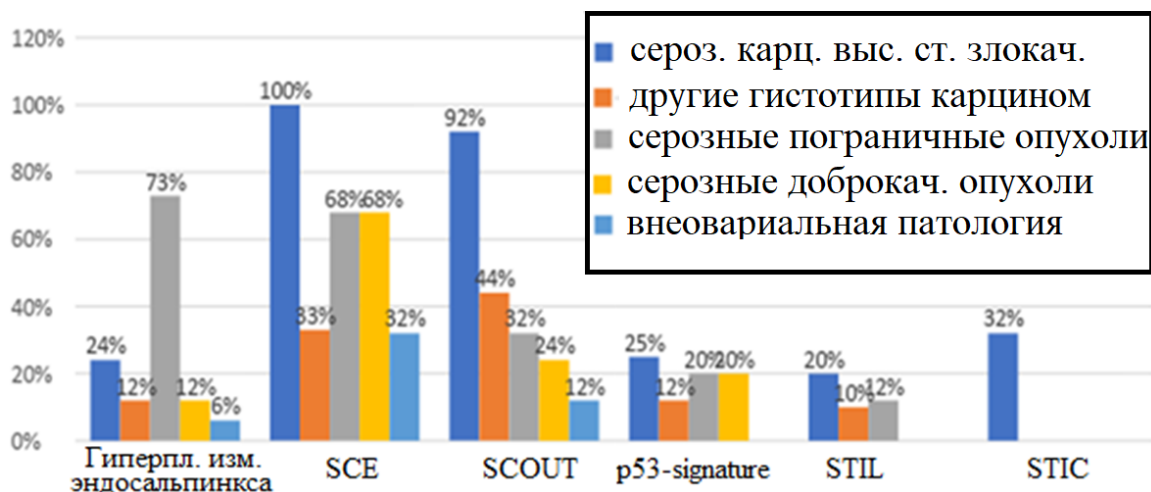
Исследования, посвященные особенностям поражений слизистой оболочки маточной трубы без фенотипических изменений, проводились и ранее, но сравнения SCE и SCOUT с учетом возраста и заболевания пациенток не оценивали. Так, C.Quick и соавт. отметили увеличение SCE у пациенток с серозными карциномами, однако авторы не смогли отнести данный показатель к независимым факторам риска после применения поправки на возраст пациенток (**Quick C., 2012**). В нашем исследовании коэффициент корреляции Пирсона между количеством SCE и возрастом пациенток составил 0,86, а между количеством SCOUT и возрастом пациенток – 0,35, однако статистически значимыми полученные результаты были при сопоставлении возраста больных как с SCE, так и с SCOUT. Эти данные позволяют рассматривать возраст пациенток в качестве независимого фактора риска для развития HGSC, хотя и менее существенного, чем мутации в генах BRCA1/2 (**Folkins A., 2009, Li J., 2012**).

Таким образом, при сравнении SCE и SCOUT в качестве прогностического критерия было выявлено, что в качестве изолированного показателя SCE обладает большей эффективностью, чем SCOUT, однако, наибольшей эффективностью обладает совместная оценка SCE, SCOUT и возраста пациенток, что и подтвердило настоящее исследование с помощью предложенной прогностической формулы. Общий процент верно классифицированных по предложенной формуле исходных наблюдений (диагностическая эффективность) составил 98,2%, чувствительность используемой функции составила 92,8%, специфичность – 100,0%. Возраст младше 47 лет можно считать ограничением для практического применения прогностической формулы из-за возможных ложноотрицательных результатов. SCE можно считать более эффективным изолированным маркером, чем SCOUT, так как отсутствует наложение нижней границы количества SCE для HGSC и верхней границы количества SCE для других патологий, в то время как для SCOUT данное наложение присутствует. Из полученных данных следует, что предложенная формула может быть эффективно использована для прогностической

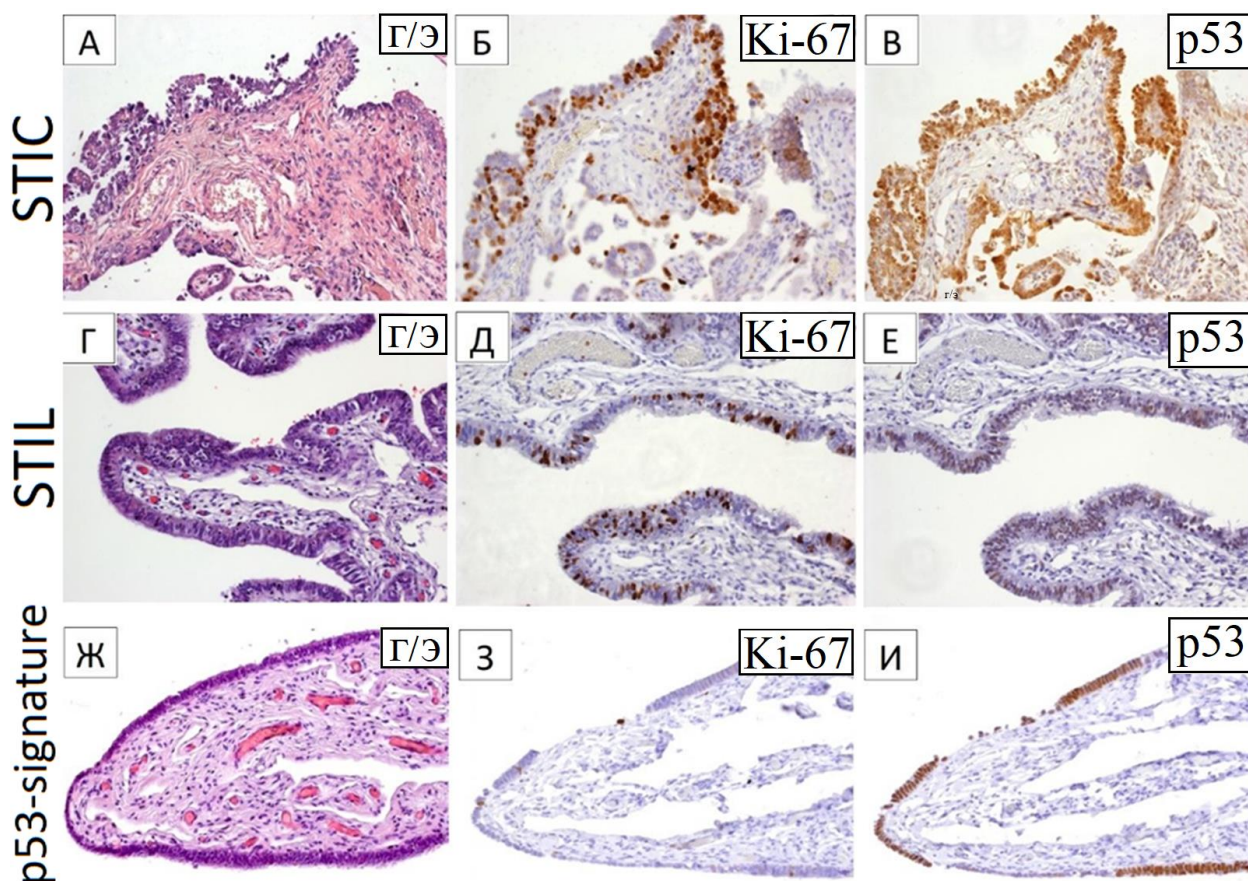
характеристики состояния яичников в случае изолированной (оппортунистической) сальпингэктомии. Однако, несмотря на прогностическую ценность интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы без фенотипических изменений, наличие интраэпителиальных поражений с фенотипическими изменениями требует 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, что диктует необходимость точной диагностики данных изменений слизистой оболочки маточной трубы.

*Интраэпителиальные поражения с фенотипическими изменениями эпителиоцитов слизистой оболочки маточной трубы*

Впервые интраэпителиальная дисплазия слизистой оболочки маточной трубы описана еще до предположения о ее патогенетической связи с HGSC, которое было высказано только после исследования, удаленных с профилактической целью у носительниц BRCA-мутаций маточных труб на всем их протяжении (**Piek J., 2001**). Для диагностики данных поражений **R. Vang (2012)** был предложен двухэтапный алгоритм диагностики, которого мы придерживались в нашем исследовании. При морфологическом исследовании маточных труб соответствующие критериям STIC поражения были выявлены в 14,7% случаев, подозрительные в отношении STIC – в 25,7%, лишенные признаков STIC – в 59,6%. После проведения ИГХ-исследования и применения алгоритма STIC была диагностирована в 10% случаев, серозное трубное интраэпителиальное поражение (англ. serous tubal intraepithelial lesion, STIL) – в 13,3%, p53-signature – в 11,7% случаев, неизменный эпителий слизистой оболочки маточной трубы или его реактивные изменения – в 65% (**рис. 7,8**).



**Рис 7.** Частота встречаемости (в %) интраэпителиальных поражений маточных труб при различных эпителиальных опухолях яичника



**Рис 8.** Участки с интраэпителиальными поражениями маточной трубы: STIC (А – В): высокая экспрессия Ki-67, выраженная экспрессия p53; STIL (Г – Е): высокая экспрессия Ki-67 и слабовыраженная экспрессия p53; p53-signature (Ж – И): выраженная экспрессия p53 и низкая экспрессия Ki-67, х 200.

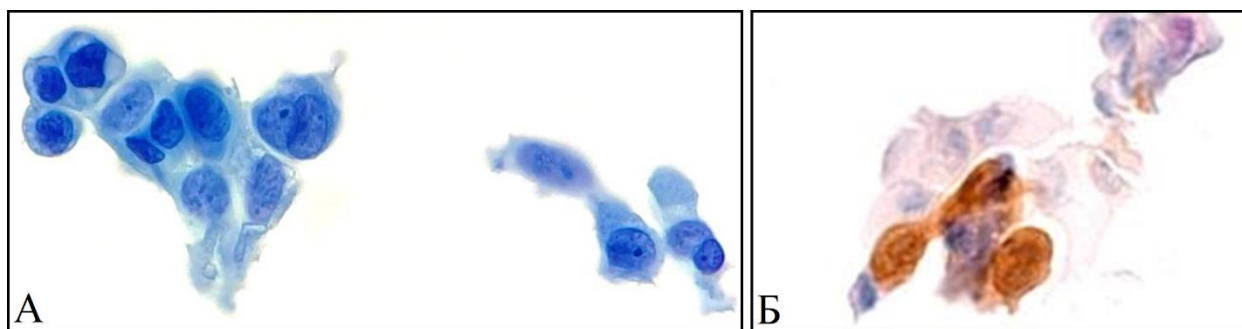
При применении диагностического алгоритма STIC нами выявлены только при HGSC, более того, все интраэпителиальные поражения слизистой оболочки маточной достоверно чаще выявлялись при HGSC, чем при других эпителиальных опухолях ( $p < 0,05$ ), при этом STIC и p53-signature были выявлены только при серозном типе карцином, STIL – еще и при эндометриоидных карциномах, различия также были достоверно значимыми ( $p < 0,05$ ). Следует отметить, что STIC были выявлены только при HGSC, а частота их верификации (32%) согласовалась с ранее полученными данными. По сравнению с некоторыми зарубежными наблюдениями (Tang S., 2012, Munakata S., 2015) более высокий процент STIC в нашем исследовании можно объяснить более частым исследованием фимбриального отдела маточных труб.

Как известно, ИГХ-исследование позволяет дифференцировать реактивные и иные изменения эпителия слизистой оболочки маточных труб и способствует выявлению 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 ( $p < 0,05$ ). В отношении STIL и p53-signature нами



также была отмечена более высокая частота встречаемости среди серозных опухолей. Полученные результаты подтверждают, что для более точной диагностики интраэпителиальных поражений маточной трубы необходимо применение ИГХ исследования. Кроме того, наличие STIC только при HGSC позволяет подтвердить концепцию о патогенетической связи между STIC и HGSC (Piek J., 2001, Kurman R., 2011), что дает основание предположить потенциальную эффективность ранней диагностики таких поражений в качестве скринингового метода. Одним из методов малоинвазивной диагностики поражений маточной трубы является цитологическое исследование мазков, взятых из ее фимбриального отдела. При цитологической оценке эпителия маточных труб у больных серозными опухолями яичника особое внимание нами было уделено особенностям ядер клеток. Наиболее выраженным полиморфизм ядер клеток слизистой оболочки маточной трубы был отмечен у больных с HGSC: умеренный (50%, n=10) и сильный (50%, n=10), при этом выраженная неровность контура ядра была выявлена только при HGSC (в 35%, n=7). Также нами были исследованы и другие клеточные характеристики (состояние ядерного хроматина и количество ядрышек), однако статистически значимые различия были определены только в отношении полиморфизма ядер клеток и неровности контура ядра, которые в группе HGSC выявлялись достоверно чаще ( $p < 0,05$ ) (рис.9).

В отличие от доброкачественных комплексов эпителиоцитов, неопластические клетки были организованы в трехмерные кластеры, а ядра клеток содержали ядрышки. Для дополнительной верификации атипических клеток возможно использование одновременного окрашивания p16 и Ki-67 коммерческим набором CINtec (Roch), поскольку p16 является чувствительным маркером для STIC при гистологическом исследовании (Novak M., 2015).



**Рис. 9.** Характерные для STIC признаки ядер клеток: полиморфизм и неровность контура ядра. А. Окраска по Папаниколау. Б Экспрессия p53, x630.

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, также мы провели оценку воспроизводимости диагнозов всех исследуемых патологических изменений слизистой оболочки маточной трубы.

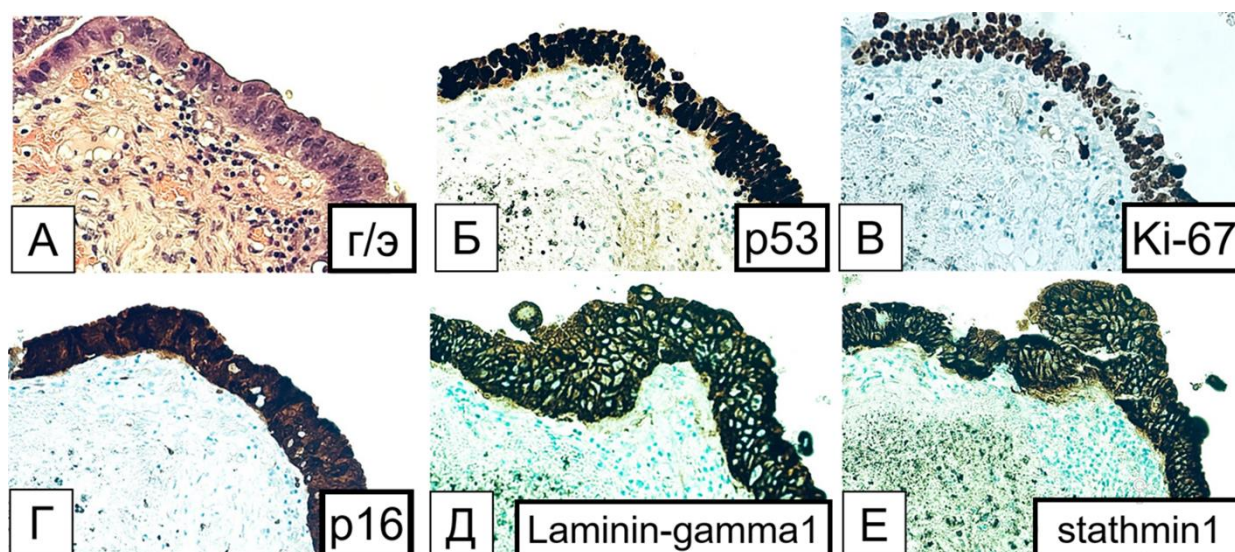
#### **Алгоритм диагностики интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы с фенотипическими изменениями эпителиоцитов**

При исследовании образцов маточных труб с морфологическими признаками ГИЭ было отмечено, что при световом микроскопическом исследовании показатель воспроизводимости диагнозов ( $\kappa$ ) был равен 0,73. При дополнительном применении ИГХ-маркеров (p53 и Ki-67) воспроизводимость диагноза ГИЭ достоверно не изменилась ( $p > 0,05$ ). Что касается диагностики SCE и SCOUT, при световой микроскопии показатель  $\kappa$  для SCE составлял 0,67, SCOUT – 0,71, при дополнительном применении ИГХ-маркеров (bcl-2, PAX2,  $\beta$ -catenin) достоверно не изменился ( $p > 0,05$ ). Приведенные данные свидетельствуют о том, что для постановки диагноза ГИЭ, SCE и SCOUT достаточно светового микроскопического исследования.

Известны попытки усовершенствовать алгоритм диагностики интраэпителиальных поражений слизистой оболочки маточной трубы с фенотипическими изменениями с помощью дополнительных ИГХ-маркеров (Carlson J., 2010, Vang R., 2012). Их применение способствовало повышению воспроизводимости диагнозов STIC, что и обосновывает использование Ki-67 и p53 в нашей работе для верификации таких поражений, однако оценка экспрессии p53 является дискуссионной, в частности, при наличии нонсенс-мутаций в гене TP53 (Havrilesky L., 2003, Köbel M., 2010), в связи с чем нами были применены дополнительные маркеры для улучшения диагностики STIC.

На основании алгоритма, рекомендованного R. Vang и соавт. STIC диагностирована у 32,5% пациенток с HGSC (n=26) при этом p53-позитивная STIC – в 77% (n=20), p53-негативная – в 23% (n=6). Число участков, соответствующих STIC, было разным (от 1 до 5). В участках STIC эпителий отличался полиморфизмом клеток, атипией их ядер, наличием митозов, индекс пролиферации по Ki-67 варьировал от 10% до 60%, умеренная и/или выраженная экспрессия p53 (в >75% атипических клеток) отмечалась в 77% поражений. При сочетании STIC и HGSC, в последней экспрессия p53 была подобна таковой в STIC. Для дополнительной диагностической панели на основании данных литературы нами были отобраны маркеры p16, stathmin1 и laminin-gamma1 для повышения качества диагностики STIC (Shehdev A., 2010, Novak M., 2015, Beirne J., 2015). Позитивная экспрессия p16 отмечена в клетках эпителия 85% STIC (из них 67% были p53-позитивными и 33% - p53-негативными. Позитивную экспрессию stathmin1 наблюдали в клетках эпителия 77,5%

STIC (78% из них были p53-позитивными и 22% – p53-негативными). Экспрессия laminin-gamma1 в эпителиоцитах была позитивной в 90% STIC (из них 75% были p53-позитивными и 25% – p53-негативными). В 23% STIC экспрессия p53 отсутствовала, при этом экспрессия Ki-67 в поражениях составляла более 10% (рис.10).



**Рис 10.** Морфологическое и ИГХ-исследование STIC: А – окраска гематоксилином и эозином, Б – высокая экспрессия p53, В - высокая экспрессия Ki-67, Г - высокая экспрессия p16, Д – высокая экспрессия laminin-gamma1, Е – высокая экспрессия stathmin1, x400.

В нашем исследовании в единичных STIC отмечалась негативная экспрессия 2-х из 3-х дополнительных маркеров, но ни в одном случае не было отмечено отсутствия экспрессии одновременно p16, stathmin1 и laminin-gamma1. Что касается p53-позитивных и p53-негативных STIC, значимые различия в экспрессии маркеров между ними 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.

При использовании световой микроскопии показатель  $k$  для STIC  $k$  составил 0,42 (умеренная воспроизводимость). Схожие данные были получены и в других исследованиях (Carlson J., 2010, Visvanatan K., 2011). При дополнительном применении ИГХ-маркеров (p53 и Ki-67) показатель  $k$  увеличился до 0,73 ( $p < 0,05$ ). Авторам алгоритма также удалось улучшить данный показатель (до 0,67). Применение предложенной нами панели p16/laminin-gamma1/stathmin1 способствовало повышению показателя  $k$  до 0,76 ( $p > 0,05$ ). При этом, исследование воспроизводимости только случаев, в которых экспрессия p53 была сомнительной и, согласно алгоритма R. Vang, показатель  $k$  был умеренным (0,55), при применении предложенной нами панели он повысился до уровня хорошей воспроизводимости (0,72) ( $p < 0,05$ ). Другими словами, хорошая воспроизводимость для

диагностики STIC может быть достигнута только при применении ИГХ-исследования с антителами к Ki-67 и p53, а при трудностях в интерпретации экспрессии p53 – только при применении дополнительной панели p16/laminin-gamma1/stathmin1.

Таким образом, мы наблюдали стабильно высокую экспрессию маркеров p16, stathmin1 и laminin-gamma1 в области STIC как при наличии, так и при отсутствии экспрессии p53 в атипических клетках. Это позволяет рекомендовать сочетанное применение p16, stathmin1 и laminin-gamma1 при отсутствии экспрессии p53 или ее пограничных показателей в участке поражения. Полученные результаты, а также данные литературы позволяют предположить, что биологическое значение экспрессии изученных белков состоит в повышении антиапоптотических и адгезивных свойств отделившейся от базальной мембраны STIC. На основании результатов данного исследования получен патент «Способ ранней диагностики серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности на основании изменения клеточного состава эпителия маточной трубы» № 2016139368 от 07.10.2016.

Учитывая результаты нашего исследования, для диагностики ГИЭ, SCE и SCOUT с хорошим показателем воспроизводимости достаточно световой микроскопии срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, для диагностики STIC необходимо дополнительное применение иммуногистохимического исследования. При этом, если имеется экспрессия p53, соответствующая мутантному типу белка – достаточно определение экспрессии ki-67 и p53, а при сомнительной экспрессии p53 для достижения хорошей воспроизводимости – необходимо использовать дополнительную панель p16/laminin-gamma1/stathmin1.

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.

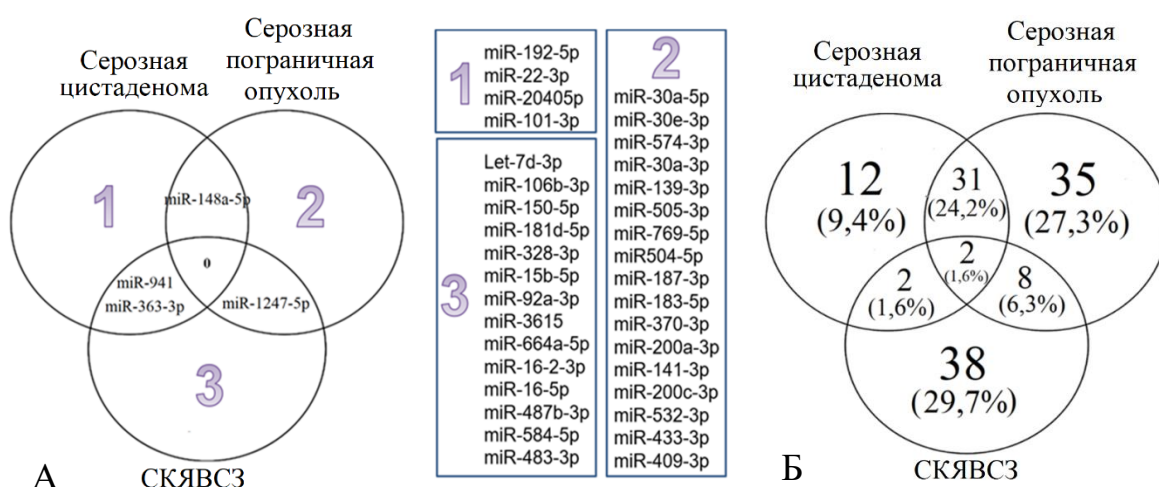
## **Мутации в генах BRCA 1/2 в образцах серозных карцином яичника высокой степени злокачественности**

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 (Любченко Л.Н., 2014): 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.

### ***Экспрессия мкРНК в ткани серозной карциномы яичников высокой степени злокачественности, серозной пограничной цистаденомы, серозной доброкачественной цистаденомы и фимбриального отдела маточных труб***

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  $>2$ ,  $p < 0,05$ ). Анализ экспрессии ткани фимбрий маточных труб у больных с серозной цистаденомой показал, что наиболее значимым было изменение экспрессии мкРНК miR-195-5p, miR-22-3p, miR-197-3p, miR-204-5p, miR-101-3p, при серозной пограничной опухоли – 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 HGSC – 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 микро РНК miR-148a-5p, серозной цистаденомы и HGSC – miR-941 и miR-363-3p, серозной пограничной опухоли и HGSC – miR-1247-5p (рис. 11 А). Изменений экспрессии какой-либо мкРНК, общей для всех трех типов опухолей, не наблюдали. 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. 11 Б).



**Рис. 11.** Экспрессия мкРНК в исследованных образцах ткани: фимбрии маточных труб при серозных опухолях яичника (А), серозные опухоли яичника по сравнению с тканью неизменной маточной трубы (Б).

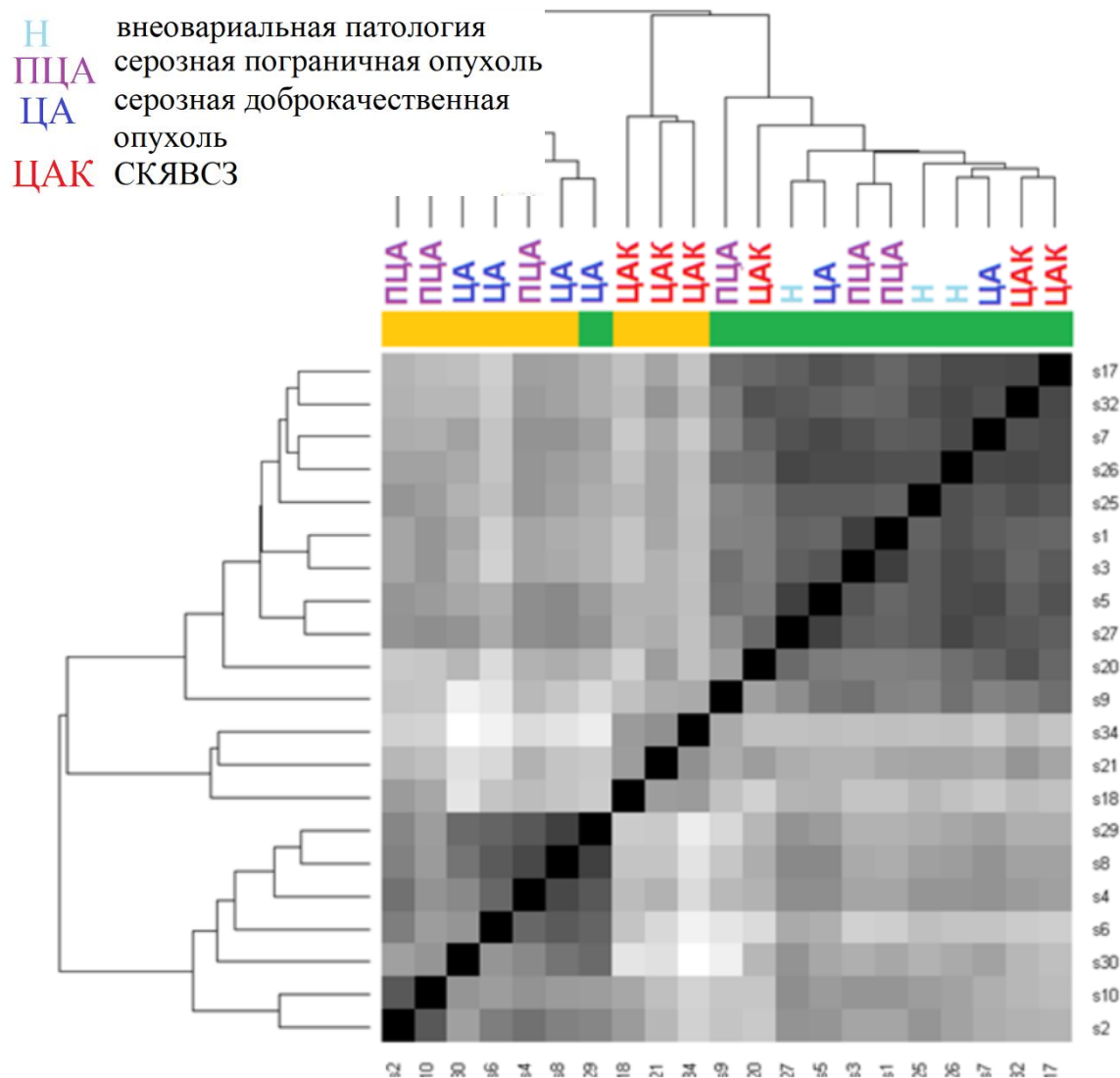
Подтверждение полученных данных при анализе экспрессии мкРНК в исследуемых опухолях осуществлялось методом количественной ПЦР в реальном времени в образцах плазмы крови соответствующих пациенток. Определяли уровень экспрессии семи наиболее значимых по данным литературы и проведённого глубокого секвенирования 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). Результаты представлены в табл. 3.

*Таблица 3. 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



Кроме того, на основании полученных результатов была построена корреляционная матрица данных глубокого секвенирования (рис.12).



**Рис. 12.** Корреляционная матрица данных глубокого секвенирования образцов ткани. Показана кластеризация в одну группу серозных доброкачественных опухолей и пограничных цистаденом и в другую – HGSC.

При анализе данной матрицы следует отметить, что образцы ткани серозной цистаденомы кластеризуются вместе с образцами серозной цистаденомы, в то время как все образцы HGSC – в отдельную группу. Это подтверждает предложенную модель патогенеза, в соответствии с которой серозные пограничные опухоли являются следующим после серозных цистаденом этапом морфогенеза, в то время как HGSC развиваются из другого предшественника. Образцы фимбрий маточных труб пациенток с HGSC и серозными пограничными опухолями также кластеризованы в разные группы, однако столь же «чистой» выборки, как в отношении 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 фимбрий маточной трубы, но и из плюрипотентных клеток параовариальной зоны овариально-фимбриальной области.

При анализе профиля мкРНК образцов опухолевой ткани HGSC выявлено статистически значимое снижение в 8 раз уровня экспрессии мкРНК ( $p=1,78E-05$ ), мишенями которых является семейство ABC-транспортеров, 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 (Yu X., 2013), колоректальном раке (Karaayvaz M., 2013) и гепатоцеллюлярном раке (Liu Y., 2012). Согласно данным литературы, miR-129-5p непосредственно ингибирует экспрессию YAP и TAZ, компонентов Hippo-сигнального пути, угнетая также пролиферацию клеток опухоли и снижая их выживаемость и онкогенный потенциал. Кроме того, подавление экспрессии miR-129-5p играет роль в развитии устойчивости HGSC к противоопухолевому цитостатическому препарату из группы таксанов паклитакселу (Xiao L., 2013). Таким образом, угнетение miR-129-5p при HGSC имеет выраженную корреляцию с прогрессией опухолевого роста и снижением выживаемости пациенток (Tan G., 2015).

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). Известно важное значение данных генов (ABCC1 и ABCG2) в возникновении мультилекарственной химиорезистентности, в том числе и опосредованно через Hippo-сигнальный путь (Westover D., 2015, Hang W., 2019).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что молекулярный портрет образцов тканей фимбрий маточной трубы и образцов ткани серозных опухолей яичника позволяют отнести серозные цистаденомы и серозные пограничные опухоли в одну группу, а HGSC – в другую, что свидетельствует об их различном морфогенезе и клиническом течении. 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 и метастазирования (Flores C., 2017), а также рассматривать данные мкРНК в качестве мишеней для разработки таргетной терапии (Mandilaras V., 2017). В то же время, несмотря на полученные морфологические и



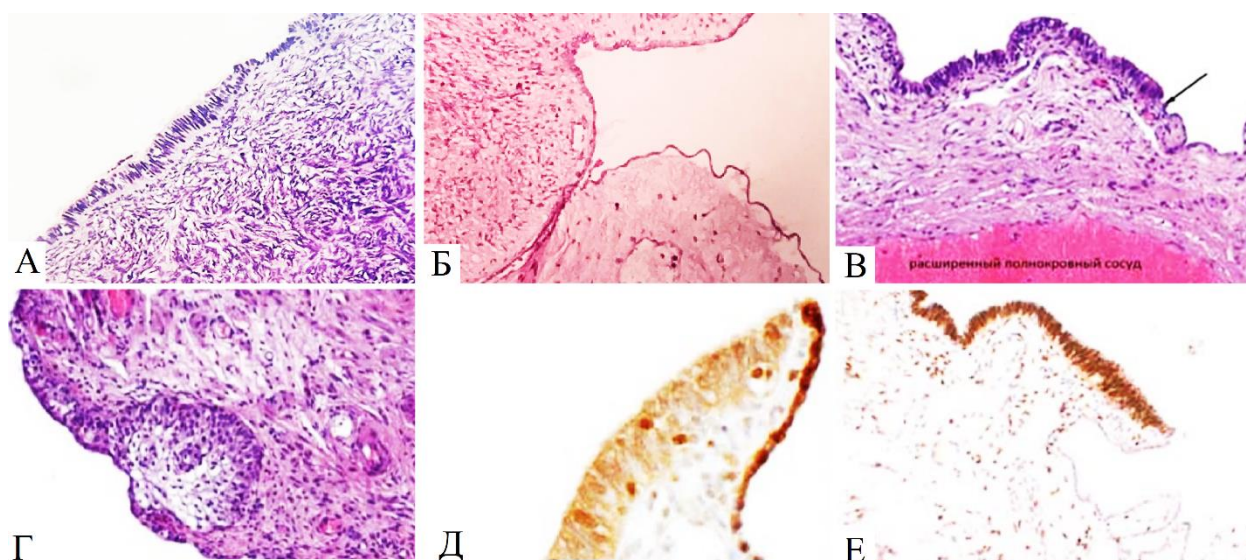
молекулярные данные, подтверждающие ведущую роль слизистой оболочки маточной трубы в морфогенезе HGSC, эпидемиологические и экспериментальные исследования показывают, что слизистая оболочка маточной трубы не является единственным источником развития HGSC (Idahl A., 2019, Zhang S., 2019). В связи с этим, нами были подробно исследованы парафимбриальная и параовариальная переходные зоны, так как в литературе имеются данные, свидетельствующие о возможной аналогии данных областей с другими переходными областями, ведущее значение которых в морфогенезе неопластического процесса уже доказана (шейка матки, пищевод и др.) (Autier P., 1996, Ghosh S., 2006). Данная точка зрения нуждалась в получении фактических данных о морфологии переходных областей в придатках матки, содержании в них повышенного количества прогениторных клеток как потенциальных источников клонального поражения при закреплении в них туморогенных мутаций, а также топического взаиморасположения данных переходных областей и STIC.

#### **Морфологические и иммуногистохимические особенности клеточного состава параовариальной и парафимбриальной зон овариально-фимбриальной области**

Несмотря на особый метод взятия материала (модифицированный SEE-FIM протокол) в нашем исследовании удалось получить репрезентативные участки не во всех случаях. Однако, доля образцов, в которых были представлены переходные области, была существенно выше, чем в ранее проведенных исследованиях, в основном из-за применения в них стандартного протокола взятия материала (Seidman J., 2011). Поверхностный эпителий яичников визуализировался в 55% взятых для исследования образцов, параовариальная зона – в 40%, фимбриальный отдел маточной трубы – в 95%, парафимбриальная зона – в 70%. Поверхностный эпителий яичников был представлен кубическим эпителием, в 20% случаев с включением эпителия, характерного для эндосальпинкса. Параовариальная зона представляла собой переход соединительнотканной стромы в корковый слой яичника, эпителиальный компонент представлен кубическими эпителиоцитами. Слизистая оболочка фимбрий маточной трубы была представлена высоким цилиндрическим эпителием, включающим мерцательные, секреторные и вставочные клетки. В парафимбриальной зоне отмечался переход мезотелия, покрывающего серозную оболочку маточной трубы в слизистую оболочку фимбрий. В 40,6% парафимбриальная зона содержала и слизистую оболочку складок фимбрии, в 59,4% располагалась вне складки. Из тех участков, которые были локализованы на складке, 43,6% находилась 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, иногда имел выпуклую форму, располагался на вершине складки

фимбрии, реже – у ее основания. В большинстве участков было отмечено расширение кровеносных и лимфатических сосудов, притом последние нередко прилегали к базальной мембране слизистой оболочки фимбрий. В парафимбриальной зоне наблюдали переходноклеточную метаплазию (в 33%). Метапластический эпителий обычно имел небольшую протяженность (в среднем 0,5 мм), но иногда его длина достигала 1–2 мм.

При изучении иммунофенотипа клеток цилиндрического эпителия маточной трубы и мезотелия ее серозной оболочки отмечали интенсивную экспрессию прогестероновых рецепторов в ядрах клеток цилиндрического эпителия, в клетках мезотелия она отсутствовала; экспрессия calretinin была позитивной в ядрах клеток мезотелия и негативной в ядрах клеток цилиндрического эпителия (рис. 13).



**Рис 13.** Участки овариально-фимбриальной области: параовариальная зона с включением эпителия типа слизистой оболочки маточной трубы (А), переход соединительнотканной стромы, покрытой мезотелием в корковый слой яичника, покрытый ПЭЯ (Б), перехода мезотелия в эпителий фимбрий (отмечен стрелкой) (В), переходный эпителий в виде гнезда Вальтхарда (Г) (А-Г – окраска гематоксилином и эозином); экспрессия calretinin в клетках мезотелия (Д), экспрессия прогестероновых рецепторов в слизистой оболочке фимбрии (Е), х400.

При исследовании локализации STIC (по отношению к парафимбриальной зоне) было выявлено, что в 53,3% STIC располагалась в непосредственной близости к переходу мезотелия в эпителий слизистой оболочки фимбрий (не далее 2 мм), в 33,3% – на некотором расстоянии от него, в 13,4% – вне слизистой оболочки фимбрий. Различия в выявляемости STIC в слизистой оболочке фимбрий (86,9%) и вне последних (13,4%) были статистически значимыми ( $p < 0,05$ ). Данные об экспрессии маркеров прогениторных клеток в овариально-фимбриальной области представлены в табл. 4

**Таблица 4.** Количество образцов ткани, в которых наблюдали экспрессию ИГХ-маркеров (позитивная/негативная) и показатели экспрессии последних, в баллах.

Маркеры прогени-торных клеток	Участки взятого образца ткани				Уровень значимости p
	Слизистая оболочка фимбрий N=55	Пара-фимбриальная зона N=25	Пара-овариальная зона 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	25/0	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	

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±0.5 баллов, NANOG- 5.8±0.8, LHN9 - 4.3±0.8, CD117 – 4,9 ±0.9, CD44 – 5.8±1.2, Oct4 - 5.8±0.3 баллов (p<0,05). Согласно нашему исследованию и некоторым зарубежным публикациям (Walts A., 2009, Seideman J., 2011) STIC преимущественно располагается в непосредственной близости от парафимбриальной зоны, притом в соответствии с нашими результатами и данными литературы – только у больных с серозными карциномами яичников (Tang S., 2012, Munakata S., 2015). По нашим данным

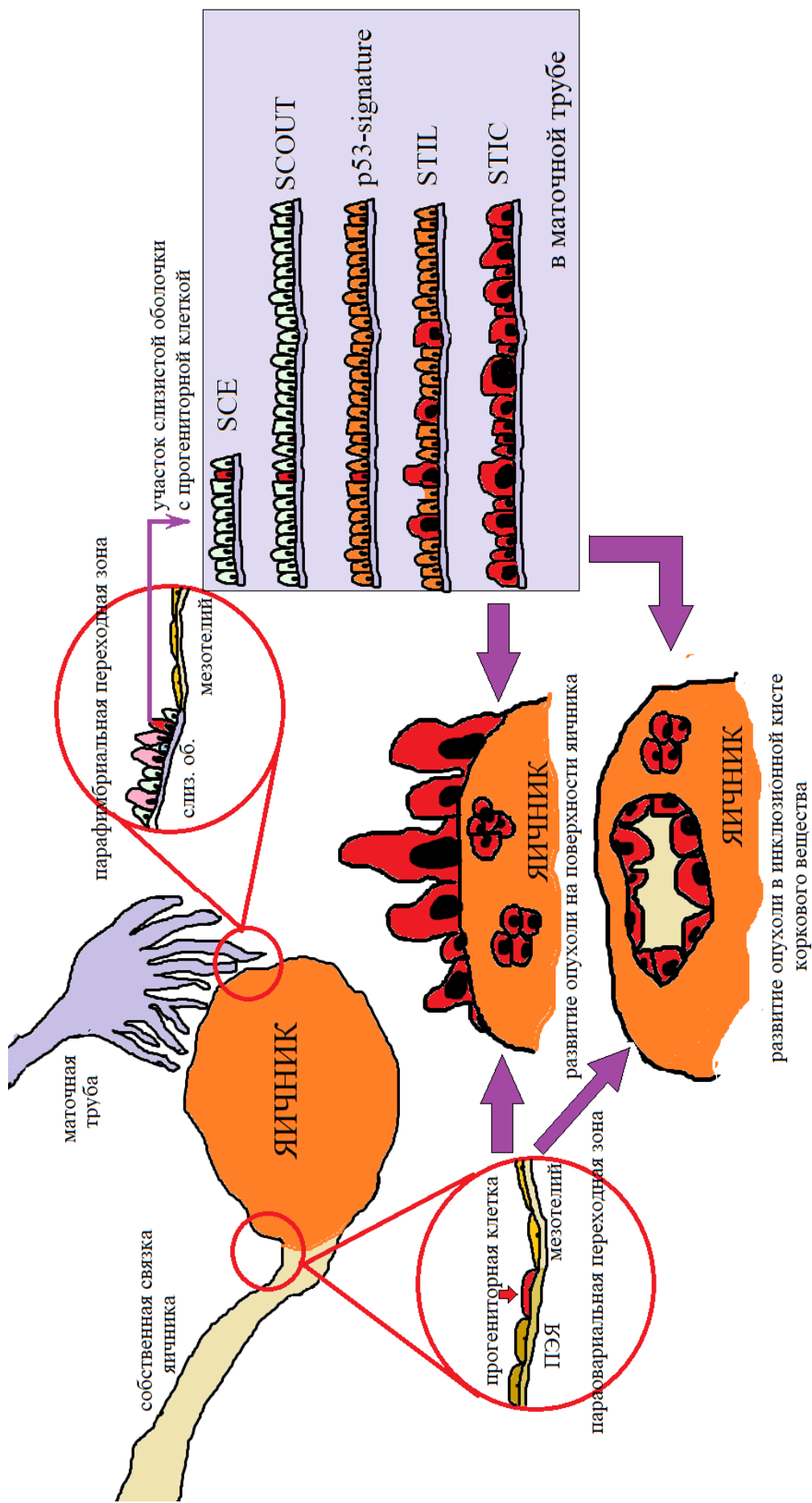
в слизистой оболочке фимбрий содержатся клетки с экспрессией LGR5, NANOG, Cd44, LNX9. Наибольшее скопление этих клеток наблюдается именно в участках, в которых в большинстве случаев локализуются STIC, имеющие фенотип, иммунофенотип и молекулярно-генетические особенности, идентичные HGSC (**Kurman R., 2008, Seidman J., 2015**). 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 (**Garson K., 2009, Hu L., 2010**). Известно, что патогенез серозных карцином яичника в настоящее время все еще остается дискуссионным, не исключают возможность существования сразу нескольких источников происхождения опухолей, имеющих идентичный фено-, иммуно- и гено-тип. 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 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 (в первую очередь, агрессивных биологически активных молекул, содержащихся в фолликулярной жидкости).

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Полученные на большой выборке собственные результаты, 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 поражения слизистой оболочки маточной трубы. Так, изменяется соотношение мерцательных 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 сальпингэктоми.

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 покрывающий 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 возникновения 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 атипических клеток 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 (**рис. 14**).



**Рисунок 14.** Схематическое представление морфогенеза серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности из прогениторных клеток-предшественников парафимбриальной и параовариальной переходных зон.

## 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, высланных 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 bcl-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, bcl-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 все 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 работ, опубликованных по теме диссертации**

### ***Статьи в журналах, рекомендованных ВАК***

1. **Асатурова А.В.** Современные представления о ранних этапах патогенеза рака яичников. *Современные проблемы науки и образования*. 2015. – № 5. – С. 339;
2. **Асатурова А.В.**, Коган Е.А., Ежова Л.С., Жарков Н.В., Файзуллина Н.М., Хабас Г.Н. Папиллярная гиперплазия маточной трубы: сочетание с серозными пограничными опухолями яичника и молекулярно-биологическая характеристика. *Акушерство и гинекология*. 2015. – № 11. – С. 58-64;
3. **Асатурова А.В.**, Адамян Л.В., Ежова Л.С., Файзуллина Н.М. Карциномы яичника с переходноклеточным фенотипом: иммуногистохимическая характеристика, патогенез и место в классификации. *Онкогинекология*. 2016. – № 2. – С. 37-44;



4. **Асатурова А.В.**, Л.В. Адамян, Л.С. Ежова Морфологические особенности эндосальпинкса при пограничных серозных опухолях яичника. Клиническая и экспериментальная морфология. 2016. – №3. – С 9-15;
5. **Асатурова А.В.**, Ежова Л.С., Файзуллина Н.М., Адамян Л.В., Хабас Г.Н. Трубно-перитонеальная переходная зона: морфологические и иммуногистохимические особенности, роль в патогенезе карцином тазовой области. Клиническая и экспериментальная морфология. 2016. – № 1 (17). – С. 11-17;
6. **Асатурова А.В.**, Ежова Л.С., Файзуллина Н.М., Санникова М.В., Хабас Г.Н. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика изменений слизистой оболочки маточной трубы при эпителиальных опухолях яичника. Архив патологии. 2016. – № 2 (78). – С. 3-9;
7. **Асатурова А.В.**, Адамян Л.В., Ежова Л.С., Файзуллина Н.М., Санникова М.В., Хабас Г.Н., Кондриков Н.И. Применение p16, laminin-gamma1 и stathmin1b в качестве дополнительных иммуногистохимических маркеров для диагностики серозной трубной интраэпителиальной карциномы. Клиническая и экспериментальная морфология. 2017. – №1. – С.8-12;
8. **Асатурова А.В.**, Адамян Л.В., Ежова Л.С., Файзуллина Н.М., Хабас Г.Н., Санникова М.В. Диагностика серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности по изменению клеточного состава эпителия маточной трубы. Акушерство и гинекология. 2017. – №6. – С.83-90;
9. **Асатурова А.В.**, Санникова М.В., Хабас Г.Н., Тимофеева А.В. Метод жидкостной цитологии для диагностики предраковых поражений маточной трубы при опухолях яичников. Акушерство и гинекология. 2017. – №5. – С.104-112;
10. **Асатурова А.В.**, Л.В., Ежова Л.С., Файзуллина Н.М., Адамян Л.В., Хабас Г.Н., Санникова М.В. Экспансия секреторных клеток на ранних этапах патогенеза серозных карцином яичника. Архив патологии. 2017. – №3 (79). – 10-18;
11. **Асатурова А.В.**, Адамян Л.В., Кондриков Н.И., Хабас Г.Н., Санникова М.В., Файзуллина Н.М. Цитогистологические параллели в диагностике интраэпителиальных поражений маточной трубы. Онкогинекология. 2017. – №2. – С 37-46;
12. **Асатурова А.В.** Нарушение соотношения клеточных компонентов слизистой оболочки маточной трубы в патогенезе серозных карцином высокой степени злокачественности. Российский биотерапевтический журнал. 2018. – № 5 (17). – С. 4;
13. Шамаракова М.В., Адамян Л.В., **Асатурова А.В.**, Ежова Л.С., Зайцев Н.В., Юрова М.В., Мартиросян Я.О. Серомуцинозные опухоли яичников и эндометриоз у женщин репродуктивного возраста. Акушерство и гинекология. 2018. – № 7. – С. 84-91;
14. Чупрынин В.Д., Буралкина Н.А., Чурсин В.В., **Асатурова А.В.**, Каткова А.С., Журба А.Ю. Гигантская муцинозная цистаденома яичника у женщины 54 лет. Акушерство и гинекология. 2018. – № 1. – С. 148-153;
15. Адамян Л.В., Мартиросян Я.О., **Асатурова А.В.** Эндометриоз и канцерогенез яичников (обзор литературы). Проблемы репродукции. 2018. – № 4 (24). – С. 7-12;
16. Адамян Л.В., Андреева Е.Н., Артымук Н.В., **Асатурова А.В.**, Ашрафян Л.А., Белокриницкая Т.Е., Долгушина Н.В., Жордания К.И., Смольнова Т.Ю., Станоевич И.В., Филиппов О.С. Диагностика и лечение доброкачественных новообразований яичников с позиции профилактики рака. Проблемы репродукции. 2018. – №56 (24). – С. 827-855;
17. Шамаракова М.В., **Асатурова А.В.** Исследование маркеров эпителиально-мезенхимального перехода, ангиогенеза и натуральных киллеров в пограничных опухолях яичников беременных женщин. Клиническая и экспериментальная морфология. 2019. – №2. – С. 35-41;
18. **Асатурова А.В.** Источники происхождения серозных карцином яичника высокой степени злокачественности. Злокачественные опухоли. 2019. – №3s1(9). – С 9-14.

*Другие публикации:*

19. **Asaturova A.**, Ezhova L., Kogan E., Fayzullina N. Intraepithelial pathology of fallopian tube and serous ovarian tumors. *Virchows Archive.* – 2013. – №463 (Suppl 1). – P.305;
20. **Asaturova A.**, Kogan E., Ezhova L., Zharkov N., Fayzullina N. The innovative role of p53 unbalance in precancerous lesions for serous ovarian carcinoma. *Virchows Archive.* 2015. – 467(Suppl 1). – P.133;
21. **Асатурова А.В.**, Коган Е.А. Ежова Л.С., Файзуллина Н.М., Жарков Н.В. К вопросу о серозных пограничных опухолях яичника. Сборник тезисов конгресса «Амбулаторно-поликлиническая помощь от менархе до менопаузы. Москва. – 2015. – С.10-12;
22. **Asaturova A.**, Kogan E., Ezhova L., Zharkov N., Fayzullina N., Khabas G. Precancerous lesions of the fallopian tubes. Abstracts and thesis super resolution in different dimensions. Moscow. – 2015 – P.46;
23. **Asaturova A.**, Adamyan L., Ezhova L., Fayzullina N., Khabas G. Intraepithelial lesions of fallopian tube: improved diagnostic panel and innovative precursor role in ovarian carcinoma pathogenesis. *Gynecological endocrinology.* 2016. – Vol.32. (Suppl). – P.58;
24. **Asaturova A.**, Adamyan L., Ezhova L., Fayzullina N., Khabas G. Serous tubal intraepithelial carcinoma and tubal-peritoneal transition zone – new aspects in high-grade serous carcinoma pathogenesis. *Gynecological endocrinology.* 2016. – Vol.32 (Suppl). – P.59;
25. **Asaturova A.**, Adamyan L., Ezhova L., Fayzullina N., Sannikova M., G. Chabas. Tubal-peritoneal junction as a trigger zone for high-grade serous carcinoma pathogenesis. *Virchows Archive.* – 2016. – 469 (Supp 1). – P.346;
26. **Асатурова А.В.**, Ежова Л.С., Файзуллина Н.М., Адамян Л.В., Хабас Г.Н. Трубно-перитонеальная переходная зона: Морфологические и иммуногистохимические характеристики, роль в патогенезе серозной карциномы яичника. X Юбилейный Международный конгресс по репродуктивной медицине (сборник тезисов). Москва. – 2016. – С. 132;
27. **Asaturova A.**, Adamyan L., Ezhova L., Fayzullina N., G. Khabas, Sannikova M. Innovative method for ovarian high-grade serous carcinoma prediction with secretory cells changes assessment in fallopian tube. Abstract book COGI. Amsterdam. – 2016. – P.128;
28. **Asaturova A.**, Adamyan L., Ezhova L., Fayzullina N., G. Khabas, Sannikova M.. Innovative diagnostic panel for serous tubal intraepithelial carcinoma detection. Abstract book COGI. Amsterdam. – 2016. – P.115;
29. **Asaturova A.**, Adamyan L., Ezhova L., Fayzullina N., G. Khabas, Sannikova M. Secretory cells expansion as a very early event in ovarian high-grade serous carcinoma. *Annals of Oncology.* – 2016. – Vol.27(Suppl 9). – P. ix 98;
30. **Asaturova A.**, Adamyan L., Ezhova L., Fayzullina N., G. Khabas, Sannikova M. The role of tubal intraepithelial pathology in serous ovarian tumors pathogenesis. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* – 2016. – Vol. 206. – P. e10;
31. **Асатурова А. В.**, Адамян Л. В., Ежова Л. С., Файзуллина Н. М., Санникова М. В., Хабас Г. Н. Инновационная диагностическая панель иммуногистохимических маркеров для диагностики серозной трубной интраэпителиальной карциномы. Сборник тезисов XI конгресса по репродуктивной медицине. Москва. – 2017. – С. 183-184;
32. **Асатурова А. В.**, Адамян Л. В., Ежова Л. С., Файзуллина Н. М., Хабас Г.Н. Санникова М. В. Исследование секреторных клеток маточной трубы в диагностике серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности: инновационная прогностическая панель. Сборник тезисов XI конгресса по репродуктивной медицине. Москва. – 2017. – С. 184-186;

33. **Asaturova A.**, Adamyan L., Ezhova L., Fayzullina N., G. Khabas, Sannikova M. Liquid-based cytology of fallopian tube smears in intraepithelial precancerous lesions diagnostics. *Virchows Archive*. 2017. – 471 (Suppl 1). – P. 49;
34. **Асатурова А. В.**, Адамян Л. В., Ежова Л. С., Файзуллина Н. М., Санникова М. В., Хабас Г. Кондриков Н. И.Н., Интраэпителиальные изменения слизистой оболочки маточной трубы при серозных опухолях яичника. *Материалы V съезда РОП. Челябинск.* – 2017. – С 30-32;
35. **Asaturova A.**, Adamyan L., Ezhova L., Fayzullina N., G. Khabas, Sannikova M. Kondrikov N. A comparison between cytology and histology to detect tubal intraepithelial lesion. *Abstract book of Human reproduction congress. Rome.* – 2017. – P.56;
36. **Асатурова А.В.** Цитологические особенности клеточного состава мазков маточной трубы при интраэпителиальных предраковых поражениях. *Гены и клетки.* 2017. – №3(12). – С.34;
37. **Asaturova A.** The progenitor-cell profile of pelvic transition zones (ovary, fallopian tube and mesothelium junctions). *The XXXII Congress of the International Academy of Pathology abstract book. Amman.* – 2018. – P.42;
38. **Асатурова А.В.** Изменения слизистой оболочки маточной трубы в патогенезе серозных карином яичника. *Сборник научных трудов молодых ученых Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи».* Санкт-Петербург. 2018 – С. 8-13;
39. **Asaturova A.**, Shamarakova M. Epithelial-mesenchymal transition and angiogenesis dialog in borderline ovarian tumors complicating pregnancy. *International Journal of Gynecologic Cancer.* 2019. – 29 (Suppl 4) – P.A433;
40. **Asaturova A.**, Kondrikov N. Innovative diagnostic panel (p16, stathmin1 and laminin-gamma1) for ovarian cancer precursor detection. *International Journal of Gynecologic Cancer,* 2019. – 29 (Suppl 4) – P.A433-A434;
41. **Asaturova A.**, Sannikova M., Kondrikov N. Transition zones and progenitor cells in ovarian cancer pathogenesis. *International Journal of Gynecologic Cancer.* 2019. – 29 (Suppl 4) –P. A433;
42. **Asaturova A.** Progenitor cells in ovario-fimbrial zone of female uterine adnexa: a potential clue for epithelial tumours pathogenesis. *Virchows Archive.* 2019. – 475 (Suppl 1). – P. 56;
43. **Asaturova A.**, Kondrikov N. Diagnostic panel with p16, stathmin1 and laminin-gamma1 for serous tubal intraepithelial carcinoma. *Virchows Archive.* 2019. – 475 (Suppl 1). – P.56;
44. **Asaturova A.**, Shamarakova M. Cross-talk between epithelial-mesenchymal transition, angiogenesis and natural killers in borderline ovarian tumours complicating pregnancy. *Virchows Archive.* 2019. – 475 (Suppl 1). – P.326
45. **Асатурова А.В.**, Кондриков Н.И., Файзуллина Н.М., Адамян Л.В. Экспрессия маркеров прогениторных клеток в эпителии овариально-фимбриальной области придатков матки женщин. *Материалы XX юбилейного всероссийского научно-образовательного форума Мать и дитя.* Москва. – 2019. – С.136;
46. **Шамаракова М.В., Асатурова А.В.** Исследование маркеров эпителиально-мезенхимального перехода, ангиогенеза и концентрации натуральных киллеров в пограничных опухолях яичников во время беременности. *Материалы XX юбилейного всероссийского научно-образовательного форума Мать и дитя.* Москва. – 2019. – С.145;
47. **Асатурова А.В., Шамаракова М.В.** Диалог во взаимодействии компонентов эпителиально-мезенхимального перехода, ангиогенеза и натуральных киллеров в пограничных опухолях яичников во время беременности. *Материалы научно-практических конференций в рамках V Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2019): сборник тезисов.* Москва. – 2019. – С.104.

### **Патенты на изобретение:**

- 1 Способ ранней диагностики серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности на основании изменения клеточного состава эпителия маточной трубы // Патент России № 0002641094. 2018 (от 15.01.2018) / **Асатурова А.В.**, Ежова Л.С., Файзуллина Н.М., Адамян Л.В., Хабас Г.Н., Санникова М.В.
- 2 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 // Патент России № 26881692018 (от 20.05.2019) / Тимофеева А. В., Чаговец В.В., **Асатурова А.В.** Санникова М.В., Хабас Г.Н., Франкевич В.Е., Сухих Г.Т.

### **Список сокращений:**

ГИЭ – гиперпластические изменения эндосальпинкса

ИГХ – иммуногистохимический

ПЭЯ – поверхностный эпителий яичника

BRCA – Breast Cancer susceptibility genes – гены восприимчивости к раку молочной железы

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 – регулятор апоптоза

p16 – белок, замедляющий деление клеток, препятствуя переходу из G1 в S1 фазу клеточного цикла и выполняющий функцию онкосупрессора

p53 – транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл и выполняющий функцию онкосупрессора

PgR – progesteron receptor – прогестероновый рецептор

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

LHX9 – LIM homeobox 9 - регулятор плюрипотентности клеток

NANOG – North American Network Operator'S Group – транскрипционный фактор, участвующий в самообновлении недифференцированных эмбриональных стволовых клеток

Oct4 – Octamer-4 – белок, участвующий в самообновлении недифференцированных эмбриональных стволовых клеток

PAX 8 – Paired box gene 8 - ядерный белок, участвующий в развитии фолликулярных клеток щитовидной железы

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

SCOUT – secretory cells outgrowth, участок слизистой оболочки, высланный 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

**Соискатель**

**Асатурова А.В.**