

*Н.Н. Гокадзе¹, В.Ю. Сельчук¹, Г.И. Краснощекова², Ю.Г. Паяниди²,
С.В. Винокурова², К.И. Жордания²*

Иммуноцитохимический анализ аспирационного материала из полости матки в диагностике серозных карцином яичников

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова»
Минздрава России,

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,
г. Москва

Цель работы: Повышение эффективности диагностики серозного рака яичников методом иммуноцитохимического (ИЦХ) анализа экспрессии маркеров p53, p16, wt1 в клетках, полученных в аспирационном материале из полости матки.

Материалы и методы: У 71 пациентки с морфологически подтвержденным диагнозом серозного рака яичников III-IV стадий (high grade — 51 чел., low grade — 20 чел.) в аспирационном материале из полости матки определяли клеточную экспрессию маркеров p53, p16 и wt1. Контролем служили группа больных с доброкачественными опухолями яичников (n=50), больные с вторичным (метастатическим) поражением яичников (n=50) и здоровые женщины (n=50). В исследование не включены больные ранними стадиями рака яичников в связи с немногочисленным числом подобных клинических наблюдений. Для цитологического исследования полученного материала и проведения ИЦХ реакций были заготовлены цитоспиновые многослойные препараты системы Cytospin. ИЦХ исследование проводилось с моноклональными антителами (МКАТ) к p53, p16, wt1.

Результаты: Наибольшую диагностическую значимость в группе серозных high grade карцином проявил маркер p53: его экспрессия прослеживалась в 31 из 51 наблюдений серозных карцином яичников, что составило 61%. Позитивная реакция маркера wt1 была отмечена в 24 из 51 наблюдений (47%), экспрессия p16 — в 25 из 51 наблюдений (49%). В группе пациенток с low grade карциномами (n=20), в противоположность группе больных high grade серозным раком яичников, положительная реакция маркера p53 прослеживалась в 3 из 20 наблюдений (15%), p16 — в 2 (10%), однако wt1 экспрессировался у 12 (60%) пациенток. В 96% наблюдениях интраоперационно отмечалась диссеминация клеток серозного рака по брюшине, в выпотных жидкостях определялись клетки сероз-

ного рака яичников. При ИЦХ исследовании аспиратов из полости матки у пациенток с доброкачественными опухолями яичников в 2 наблюдениях отмечалась очаговая умеренная экспрессия белка p53 в отдельных клетках эпителия эндометрия. Гистологически у этих пациенток была выявлена серозная цистаденома яичников, а в остальных 48 исследуемых образцах этой группы положительной реакции маркеров не наблюдалось. При вторичном поражении яичников, а так же в контрольной группе положительной ИЦХ реакции маркеров p53, p16, wt1 в исследуемом материале не наблюдалось.

Выводы: Повышенная экспрессия маркеров p53, p16, wt1 в клетках, полученных при аспирации из полости матки при ИЦХ исследовании, может служить дополнительным диагностическим тестом серозного high grade рака яичников.

Ключевые слова: серозный рак яичников, аспират из полости матки, предикторы, маркеры, p53, p16, wt1, иммуноцитохимический метод (ИЦХ)

Введение

«Рак яичников» — это собирательный термин, включающий в себя целый ряд заболеваний, имеющих различный гистогенез, морфологию, клиническую картину и прогноз. Несмотря на значительные усилия научного сообщества, направленные на разработку скрининга рака яичников, поиск высокочувствительных и специфичных маркеров, а также предикторов карцином яичников как локализованных, так и диссеминированных форм этой группы болезней, продолжает оставаться одной из наиболее актуальных задач [1].

При анализе статистических данных трудно не заметить, что значительных успехов даже в цивилизованных странах в этом направлении добиться все еще не удалось: удельный вес больных с опухолевым процессом I-II стадии

от числа пациенток с впервые выявленным диагнозом (в 2017 г. этот показатель составил 14030 человек) равен 39,4%. Таким образом, в преобладающем количестве наблюдений больные РЯ начинают получать специфическое лечение именно III и IV стадии болезни (58,9%), что существенно сказывается на уровне выживаемости [2,3]. Кроме того, по прогнозам ВОЗ общее число умерших от РЯ ежегодно будет увеличиваться. В частности, если в 2015 году в РФ этот показатель составил 7 789 женщин, то по предварительным данным к 2035г. эта цифра возрастет до 8 668 чел.

Таким образом, в клинической практике РЯ I-II стадий скорее случайная находка, чем результат ряда диагностических манипуляций, непосредственно направленных на поиск конкретно этого заболевания. Помимо отсутствия ранней клинической симптоматики, которая могла бы стать причиной обращения пациентки в ЛПУ, на сегодняшний день не существует официально признанного скрининга рака яичников, что сводит к минимуму число случаев, диагностированных на ранних стадиях и сказывается на столь высоком уровне смертности, являясь в свою очередь причиной больших экономических потерь. В 1998г в США под эгидой Национальной программы оценки медицинских технологий был проведен обзор 25 исследований, в которых в качестве метода скрининга выдвигалась комбинация ультразвукового исследования органов малого таза и определение сывороточного уровня маркера СА-125. В результате получены данные, согласно которым данная комбинация свидетельствовала о небольшой эффективности этих двух методов в качестве скрининга.

Публикация результатов группы по исследованию РЯ, проводимому с 1993 по 2001 гг. в 10 клиниках США в составе PLCO (Prostate Lung Colorectal Ovarian — рандомизированное контролируемое исследование рака простаты, легких, колоректального рака и РЯ), согласно которым при ежегодном исследовании 78 216 женщин в возрасте от 55 до 74 лет не было выявлено специфического увеличения выживаемости, в группе подвергнутой анализу уровня маркера СА-125 в сыворотке крови в комбинации с трансвагинальным УЗИ (в течение 4 лет) в сравнении с группой женщин, не подвергнутой данному обследованию (в течение 6 лет), даже при увеличении медианы наблюдения до 15 лет [3]. С 2001 по 2005 гг. в Великобритании под руководством National Health Service проходило более крупное испытание UKSTOCS UK (Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening), посвященное оценке экономической эффективности скрининга РЯ [4]. Согласно исследованию все испытуемые (202 638 женщин в возрасте от

50 до 74 лет) были разделены на три группы в соотношении 1:1:2. Первая группа, подверглась мультимодальному скринингу (MMS), вторая группа подверглась трансвагинальному УЗИ только при наличии превышения нормального значения маркера СА-125 в сыворотке крови, и третья, она же контрольная группа, скрининг вышеперечисленными методами не проходила. Результаты были несколько противоречивы — первичный анализ не продемонстрировал статистически значимых данных в пользу проведения скрининга. Однако при сравнении уровня выживаемости группы больных, проходящих мультимодальный скрининг и контрольной группы, была обнаружена тенденция к снижению смертности в первой группе, которая возникла после 7-го года наблюдения. Окончательные данные исследования ожидаются к концу 2019 года. В этом контексте следует отметить, что понимание молекулярных характеристик онкогенеза рака яичников может способствовать раннему выявлению заболевания с помощью множества подходов, таких как идентификация возможных предшественников-биомаркеров в различных средах организма [5].

Основываясь на теории овариального канцерогенеза, выдвинутой R.J. Kurman et al., согласно которой первоисточником рака яичников (а именно highgrade) является эпителий фимбриального отдела маточной трубы или серозная трубная интраэпителиальная карцинома (СТИК) последнего, на наш взгляд логичным было бы использовать для исследования содержимое полости матки и рассмотреть возможность попадания опухолевых клеток не только в брюшную полость, но и в первую очередь в полость матки [6].

Неоспоримым доказательством трубного происхождения преобладающей части серозного рака яичников является работа Jennifer Ducle et al., в которой авторы продемонстрировали идентичность профилей геномных нарушений серозного highgrade рака и СТИК, представив результаты полногеномного секвенирования и анализ количества копий микродиссекционированных участков поражений маточных труб (сигнатуры p53, СТИК и карциномы маточной трубы) 9 пациенток. Большинство ассоциированных с опухолью альтераций были представлены в клетках СТИК, включая *TP53*, *BRCA1*, *BRCA2* или *PTEN*. Анализируя развитие СТИК, было установлено, что сигнатура p53 и СТИК являются предшественниками карциномы яичников, а для перехода СТИК в инвазивную серозную карциному яичников, которая затем быстро метастазирует, требуется временной интервал порядка 7 лет [7].

Нарастающее количество исследований, посвященных канцерогенезу серозного рака

яичников, как наиболее распространенного морфологического типа злокачественных новообразований этой локализации, указывают на необходимость проведения тщательного иммуногистохимического анализа ткани опухоли с целью установления морфологического диагноза и определения тактики последующего лечения. Согласно современным алгоритмам, стандартная панель для иммуногистохимической диагностики серозного highgrade и lowgrade рака яичников включает в себя комбинацию маркеров wt1, p53, p16. Положительная реакция маркера wt1 позволяет дифференцировать серозный рак яичников от серозных карцином других локализаций, тогда как экспрессия p53 и p16, а также оценка индекса p53/p16 позволяет установить конкретный подтип серозных карцином (highgrade или lowgrade)[8]. Ниже рассмотрим характеристики этих маркеров.

Маркер p53 — это патологический белок, экспрессируемый клеткой при мутации гена-супрессора опухолевого роста *TP53*. В норме *TP53* функционирует как основной «защитник» генома, при его мутации нарушаются внутриклеточные механизмы регуляции клеточного цикла, блокируется апоптоз, что в свою очередь способствует опухолевому росту. Транскрипционный фактор p53 обнаруживает повреждения ДНК, возникшие под действием тех или иных внешних агентов, блокирует клеточный цикл в фазах G1, G2, тем самым создавая условия для репарации поврежденной молекулы ДНК и предотвращая появление мутаций в клетках. Если же работа репарационных систем нарушается, *TP53* запускает запрограммированную в геноме клеточную гибель, т.е. апоптоз. Таким образом, посредством вышеописанных механизмов, опухолевый супрессор p53 координирует все основные процессы поддержания генома, являясь важнейшим компонентом системы контроля повреждений в клетке. При наличии мутации соответствующего гена, наблюдается «сверхэкспрессия» белка p53 в клетках, что свидетельствует об их злокачественной трансформации. Нельзя не отметить наличие корреляционной взаимосвязи между увеличением экспрессии p53, нарастанием морфологической атипичности и степенью злокачественности. Положительная ядерная экспрессия p53 при положительной реакции маркера wt1 и p16 свидетельствует в пользу high grade серозного рака яичников. Low grade карциномы характеризуются диким типом гена *TP53*, из чего следует отрицательная реакция маркера p53 на фоне положительного wt1-статуса и неравномерной экспрессии p16 [8, 9].

Кроме того, известный ранее ген-супрессор опухолевого роста *CDKN2A*, локализованный в

коротком плече 9 хромосомы, и его белковый продукт p16, осуществляют контроль за продолжительностью клеточного цикла и верной последовательностью его фаз. Утрата белка p16 из-за мутации соответствующего гена приводит к блокированию сигнальных путей, опосредованных циклинами, а следовательно и утрате контроля над клеточным циклом, происходит активация генов, обуславливающих вхождение клетки в S-фазу клеточного цикла. В свою очередь, нарушения в G1-фазе и G1/S контрольной точке приводят к неконтролируемой клеточной пролиферации, росту опухолей. Установлено, что при доброкачественных опухолях яичников независимо от морфологического типа наблюдается неоднородная и крайне слабая цитоплазматическая экспрессия p16, а при пограничных и злокачественных — уровень экспрессии p16 значительно выше. Установлена клиническая значимость оценки уровня экспрессии p16 при гиперпластических заболеваниях эндометрия и протоковой карциноме молочной железы — в этом случае выдвинуто предположение, что цитоплазматическая гиперэкспрессия p16 является своеобразным предиктором рака [10].

Маркер wt-1 — белковый продукт одноименного гена-супрессора опухолевого роста, локализованного в 11 хромосоме, участвует в развитии тканей, происходящих из мезодермы, в частности мочевого тракта. Как отмечено ранее, в настоящее время оценка экспрессии маркера используется при иммуногистохимическом исследовании для определения локализации первичного очага серозных карцином. Существует ряд исследований, согласно которым экспрессия wt-1 имеет значительные различия при серозном раке тела матки и серозной аденокарциноме яичников, что связано главным образом с гистогенезом эндометрия и мезотелия, покрывающего яичники и брюшину. Клинические проявления серозного рака эндометрия и серозного рака яичников схожи: заболевания зачастую характеризуются агрессивным течением, сопровождаясь выраженным канцероматозом брюшины, что обуславливает трудности в идентификации источника опухоли. Научные работы, утвердившие wt-1 в качестве маркера для дифференциальной диагностики серозных карцином полости малого таза, указывают на положительную экспрессию последнего при серозных карциномах яичников и маточной трубы (как high так и lowgrade) и отрицательную при серозном раке эндометрия[11, 12].

Таким образом, изучая материал, полученный из полости матки у пациенток с серозными карциномами яичников, наиболее целесообразным мы сочли оценить экспрессию именно упомянутых маркеров.

Материалы и методы

В лаборатории клинической цитологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» с 2013 по 2019 гг. выполнены 221 цитологическое и 663 иммуноцитохимических исследования аспирационного материала из полости матки.

Как отмечено ранее, все пациентки, включенные в исследование, были разделены на 4 группы:

I группа — больные серозным раком яичников (n=71), в возрасте от 32 до 75 лет (средний — 53,5 лет). Общее количество пациенток с high grade серозными карциномами составило 71,8% (51 чел.), с low grade — 28,2% (20 чел.). В группе серозных high grade карцином яичников большинство пациенток имели III стадия заболевания (42 чел. — 82,3%), у 9 больных (17,7%) в процессе обследования установлена VI стадия серозного high grade рака яичников (цитологически верифицированный метастатический плеврит). Пациентки подгруппы low grade серозных карцином в 80% наблюдений (16 чел.) имели III стадия, в 20% (4 чел.) — IV стадию заболевания по FIGO.

II группа — больные с метастатическим поражением яичников из другого первичного очага (n=50) в возрасте от 32 до 71 лет (средний 51,5 лет). В данную группу включены пациентки с карциномами молочной железы (15 чел. — 30%), желудка (6 чел. — 12%), толстой кишки (9 чел. — 18%), поджелудочной железы (8 чел. — 16%) и почки (2 чел. — 4%).

III группа — 50 пациенток с доброкачественными опухолями яичников в возрасте от 31 до 77 лет (средний — 54 года), куда были включены больные с морфологически подтвержденной серозной папиллярной цистаденомой (15 чел. — 30%), муцинозной цистаденомой (13 чел. — 26%), зрелой тератомой (8 чел. — 16%), текомой (8 чел. — 16%), эндометриоидными кистами (6 чел. — 12%).

IV группа — группа контроля, состоящая из 50 здоровых женщин-добровольцев в возрасте от 32 до 74 года (средний — 53 года).

В исследование в равной доле включены женщины, находящиеся в репродуктивном периоде (52 чел. — 23,5%), перименопаузе (58 чел. — 26,2%), менопаузе (53 чел. — 24%) и постменопаузе (53 чел. — 24%). В исследуемой группе больных серозным раком яичников III и IV стадиями в аспирационном материале из полости матки опре-

деляли клеточную экспрессию маркеров p53, p16 и wt-1, сравнивая полученные результаты с группой больных доброкачественными опухолями яичников, группой больных с вторичным поражением яичников и контрольной группой (здоровые женщины). Для получения наиболее информативного материала из полости матки методика аспирации образцов клеток из последней осуществлялась с помощью применения двухпросветного центрального венозного катетера REFCV-17702-E фирмы «Arrow International Inc», США (рис. 1).

В амбулаторных условиях при визуализации шейки матки в зеркалах после обработки влагалища водным раствором хлоргексидина для удобства манипуляций последняя фиксировалась пулевыми щипцами. Затем через цервикальный канал в полость матки вводился двухпросветный силиконовый катетер, к которому подсоединялись два шприца объемом 20 мл, один из которых был наполнен 0,9% раствором хлорида натрия. После введения катетера в полость матки (что достоверно определялось введением его на глубину до советующей заводской маркировке на его поверхности) производилось медленное введение физиологического раствора в катетер с одномоментной аспирацией полученного материала. Материал помещали в эппендорф-пробирку с питательной средой и доставляли в лабораторию. Таким образом, в отличие от аспирации содержимого полости матки с применением зонда типа Пайпель, данный метод позволил нам изучить клеточный состав содержимого полости матки, минимизируя содержание в нем форменных элементов крови и пластов клеток эндометрия.

Для цитологического исследования полученного материала и проведения ИЦХ реакций были заготовлены цитоспиновые многослойные препараты системы Cytospin — серия многослойных цитопрепаратов на центрифуге Cytospin — 3 в режиме 1000 г\мин в течение 5 минут. Два мазка окрашивали по Лейшману, на 4-х проводили ИЦХ исследование с моноклональными антителами (МКАТ) к p53, p16, WT1. Остальные препараты (6-4) фиксировали в химически чистом ацетоне при температуре +4-8 С и архивировали при -20 С, предварительно завернув в фольгу. ИЦХ исследование проводилось на иммуногистостейнере Ventana (BenchMarkULTRA). Для ИЦХ использовались МКАТ фирмы ДАКО: p53 и p16 (клон DO-7, разведение 1:25-1:50), WT1 (клон MIB1, разведение 1:75-1:50).

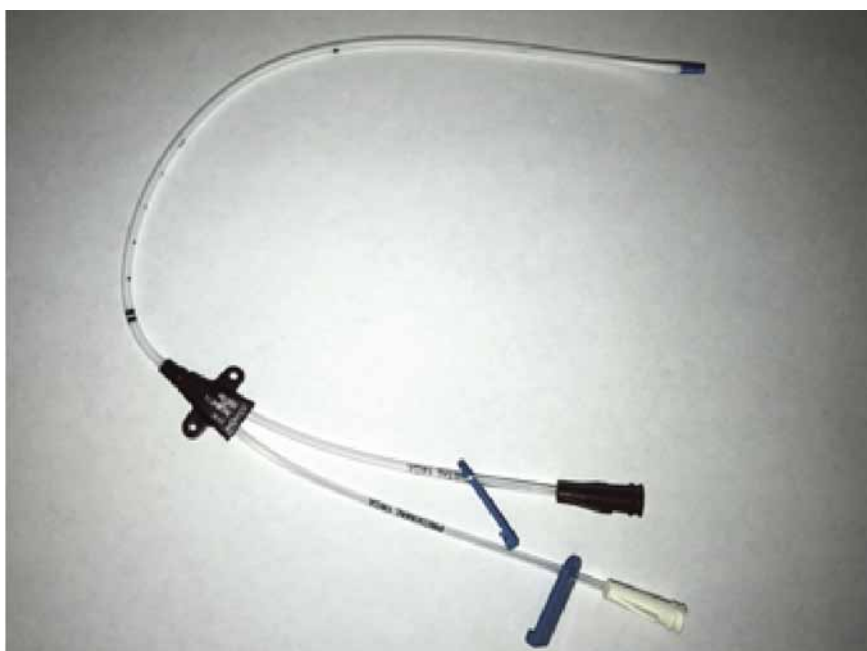


Рис. 1. Двухпросветный центральный венозный катетер REFCV-17702-E фирмы «Arrow International Inc», США

Результаты

В ходе данного исследования установлено, что в 31 из 51 (61%), наблюдений отмечалась выраженная экспрессия белка p53 в опухолевых клетках. В 24 из 30 (47%) аспириатов в клетках отмечалась положительная реакция wt1 и в 25 из 51 (49%) экспрессия белка p16. Необходимо отметить, что при гистологическом исследовании послеоперационного материала в 2 из 30 наблюдений в эндометрии отмечены разрастания серозной АК. В одном наблюдении из 51 клетки рака в аспирате морфологически были представлены эндометриоидной карциномой, что и подтверждалось при ИЦХ-исследовании — p53+/wt1-/p16+, но при гистологическом исследовании была выявлена серозная папиллярная аденокарцинома яичников в сочетании с простой железистой гиперплазией эндометрия.

В 50 наблюдениях метастазов в яичниках (карцином кишки, почки, молочной железы, желудка и поджелудочной железы) при цитологическом исследовании аспириатов у подавляющего большинства больных клеток рака выявлено не было. Только в одном наблюдении у пациентки с метастазом колоректального рака в яичник в аспирате из полости матки выявили АК эндометриоидного типа, что также подтвердилось при ИЦХ исследовании выраженной положительной экспрессией белка p53. У одной из пациенток с метастазом РМЖ в яичнике, в аспирате из полости матки определялись псевдопапиллярные скопления эпителиальных клеток без выраженных признаков злокачественности, подозрительные в отношении пограничной опухоли яичников. При

ИЦХ исследовании отмечались умеренная положительная реакция белка p53 в 10% опухолевых клетках и высокий индекс пролиферативной активности Ki67 = 65%.

При классическом цитологическом исследовании аспириатов из полости матки 50 пациенток с доброкачественной патологией яичников (придатков) клеток злокачественного новообразования в материале не найдено. Средний возраст колебался от 25 до 65 лет. В двух наблюдениях серозной цистаденомы яичников при ИЦХ анализе выявлена умеренная экспрессия p53 в части клеток эпителия эндометрия, причем в одном из них отмечалась умеренная экспрессия p16 и высокий индекс Ki67=50%, при отсутствии экспрессии wt1. Выраженная экспрессия p16 в отдельных скоплениях эндометрия сопочкового строения при отсутствии экспрессии других маркеров выявлена у пациентки с муцинозной цистаденомой яичников (p53-/wt1-). Индекс пролиферативной активности в клетках эпителия эндометрия при доброкачественных опухолях яичников варьировал в пределах 1–15%.

В контрольную группу вошли 50 практически здоровых женщин-добровольцев, проходивших профосмотр. При цитологическом исследовании клеточного состава аспириатов из полости матки у всех женщин, не имеющих в анамнезе патологии гинекологической сферы, клеток рака не было выявлено. Проведено иммуноцитохимическое исследование с антителами к антигенам wt1, p53, p16: экспрессия wt1– отрицательная во всех 50 наблюдениях, положительная ИЦХ

Таблица 1. Частота обнаружения экспрессии p53, wt1,p16 в зависимости от гистологического строения опухоли

Патология яичников		Количество образцов аспирационного материала из полости матки	Частота экспрессии p53/wt1/p16
Серозный рак яичников	High-grade	51	31/24/25
	Low-grade	20	3/12/2
	Итого	71	34/36/27
Доброкачественные опухоли яичников	Серозная папиллярная цистаденома	15	2/-/1
	Муцинозная цистаденома	13	-/-/1
	Зрелая тератома	8	-/-/-
	Текома	8	-/-/-
	Эндометриоидные кисты	6	-/-/-
	Итого	50	2/-/2
Метастазы в яичниках из других первичных очагов	Рак молочной железы	15	-/-/-
	Рак желудка	6	-/-/-
	Рак толстой кишки	9	1/-/-
	Рак почки	2	-/-/-
	Рак поджелудочной железы	8	-/-/-
	Итого	50	1/-/-
Контрольная группа		50	1/-/3

реакция с p16 отмечалась в 3 исследованиях, но имела слабо выраженную экспрессию в единичных клетках подтвержденного в дальнейшем гистологически пролиферирующего эндометрия. Экспрессия p53 была отрицательная у 49 женщин, и только в одном наблюдении отмечена слабая очаговая экспрессия белка p53 в клетках эпителия эндометрия. В дальнейшем, при динамическом наблюдении в течение нескольких лет, методом аспирационной биопсии гистологически были диагностированы: в 3 наблюдениях — простая железистая гиперплазия эндометрия, в 2 — атипичная гиперплазия, 1 вариант аденомиоза. У остальных 45 обследуемых отмечены варианты физиологического состояния эндометрия.

Выводы

В нашем исследовании наибольшую диагностическую значимость продемонстрировал маркер p53, экспрессия которого выявлена в 61% наблюдений серозного high grade рака яичников. Несколько меньшей значимостью обладают маркеры p16 и wtl, характеризующаясь положительной реакцией в 50% и 47% соответственно. При наличии в яичниках метастазов карциномы из других органов (n=50) и доброкачественных опухолях яичников (n=50), аналогичных клеток рака в материале из полости матки выявлено не было. Однако ИЦХ исследование в 2 наблюдениях выявило очаговую умеренную экспрессию белка p53 в отдельных клетках эпителия эндометрия при серозной папиллярной цистаденоме яичников. В контрольной группе условно здоровых женщин, не имеющих доброкачественной и злокачественной патологии яичников, клеток рака не выявлено. Полученные данные могут свидетельствовать в пользу возможности применения иммуноцитохимического анализа клеток аспирационного материала из полости матки в качестве дополнительного дооперационного метода диагностики серозного рака яичников, а также в несколько меньшей степени в дифференциальной диагностике опухолей яичников.

Обсуждение

С успехом внедренный в клиническую практику скрининг рака шейки матки (ПАП-тест) послужил основой для гипотезы, согласно которой содержимое цервикального канала содержит опухолевые клетки не только при патологии последнего, но и при опухолях иных локализаций, в том числе и яичников. Согласно зарубежным публикациям одними из первых исследовательских работ, посвященных анали-

зу молекулярных маркеров карцином яичников в содержимом полости матки и цервикальном канале, стали работы американских исследователей из Медицинского Института Джона Хопкинса, Балтимор, США [13]. В 2015 году Американским сообществом клинической онкологии опубликованы еще одни результаты исследования, проведенного в медицинском университете Вены (Австрия), в котором были проанализированы образцы смывов из полости матки 65 пациенток [14]. Среди женщин, вошедших в исследование, было 30 пациенток, страдающих раком яичников различных гистологических форм, 5 — карциномой эндометрия, 3 — злокачественными опухолями иных локализаций и 27 испытуемых с доброкачественными опухолями половых органов. Смывы получали с помощью введения в полость матки физиологического раствора через специально разработанный трехканальный силиконовый катетер. Анализ полученного материала на наличие опухолевых клеток и мутаций (*TP53*, *KRAS*, *BRAF*, *PTEN*, *ARID1*, *CDKN2A*, *PIK3CA*, *BRCAl*, *BRCAl2* и ряда других), а также анализ самой опухолевой ткани в них проводился методом ПЦР и NGS. Определив аналогичные геномные нарушения в смывах и ткани опухоли, удалось установить, что клеточный материал, полученный из полости матки высокоинформативен, содержит достаточное количество ДНК для анализа, но и позволяет определить наиболее характерную для серозных карцином мутацию гена *TP53* в 60% наблюдений (18 из 30 пациенток), что практически совпадает с данными нашего исследования. Результаты, полученные у пациенток из группы с доброкачественными опухолями яичников, продемонстрировали, как и в нашем исследовании, негативный статус в отношении мутации *TP53*.

В данной работе была предпринята попытка анализа диагностической значимости экспрессии, с нашей точки зрения, оптимального количества маркеров (p53, wtl, p16) и их комбинации, которые наиболее характерны для серозного рака яичников. Несмотря на сравнительно небольшое количество исследуемых образцов, данный подход продемонстрировал перспективность этого направления в повышении качества диагностики опухолей яичников и усовершенствовании дифференциальной диагностики заболевания. Безусловно для окончательной оценки эффективности предложенной методики потребуются дальнейшее накопление и анализ материала, особенно исследование образцов из полости матки у больных с ранними стадиями болезни и изучение экспрессии других молекулярно-генетических маркеров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жордания К.И., Паяниди Ю.Г., Савостикова М.В. и др. Некоторые нюансы патогенеза рака яичников // Журнал Онкогинекология. — 2016. — Т. 1. — С. 36-46.
2. Жордания К.И., Гокадзе Н.Н., Савостикова М.В. и др. Диагностическая значимость маркеров p53, p16, wt1 в аспирационном материале из полости матки у больных серозным раком яичников. — 2019. — Т. 1. — С. 28-36.
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. — МНИОИ им. П.А. Герцена, Москва, 2018. — С. 27- 31.
4. Buys S., Partridge E., Black A. et al. Effect of screening on ovarian cancer mortality. The prostate, lung, colorectal and ovarian cancer screening randomized controlled trial // JAMA. — 2011. — Vol. 305. — P. 2298–2303.
5. Jacobs I.J., Menon U., Ryan A. et al. Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomized controlled trial // Lancet. — 2016. — Vol. 387. — P. 945-956.
6. Жордания К.И., Гокадзе Н.Н., Савостикова М.В. и др. Диагностическая значимость маркеров p53, p16, WT1 в аспирационном материале из полости матки у больных серозным раком яичников // Журнал Онкогинекология. — 2019. — Т. 1. — С. 28-35.
7. Kurman R.J., Shih I.M. The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis // Am. J. Pathol. — 2016. — Vol. 186. — P. 733-747.
8. Labidi-Galy S.I., Papp E., Hallberg D. High grade serous ovarian carcinomas originate in the fallopian tube // Nature communications. — 2017. — Vol. 8. — P. 1093.
9. Uis Felipe Sallum, Liliana Andrade, Susana Ramalho, Amanda Canato Ferracini et al.
10. WT1, p53 and p16 expression in the diagnosis of low- and high-grade serous ovarian carcinomas and their relation to the prognosis // Oncotarget. — 2018. — Vol. 9(22). — P. 15818-15827.
11. Corney D.C., Flesken-Nikitin A., Choi J., Nikitin A.Yu. Role of p53 and Rb in Ovarian Cancer // Adv. Exp. Med. Biol. — 2008. — Vol. 117.
12. Manuel Serrano. The Tumor Suppressor Protein p16INK4a EXPERIMENTAL CELL RESEARCH. — 2017. — Vol. 237. — P. 7–13.
13. Atik Y., Cetinkaya Demir B., Ozan H. et al. Wilms' tumor-1 protein expression in endometrial adenocarcinoma and endometrial intra-epithelial neoplasia // J. Obstet. Gynaecol. Res. — 2016. — Vol. 2. — P. 109-115.
14. Al-Hussaini M., Stockman A., Foster H. et al. WT-1 assists in distinguishing ovarian from uterine serous carcinoma and in distinguishing between serous and endometrioid ovarian carcinoma // Histopathology. — 2004. — Vol. 44(2). — P. 109-115.
15. Kinde I., Bettegowda C., Wang Y. et al. Evaluation of DNA from the Papanicolaou Test to Detect Ovarian and Endometrial Cancers // Science Translational Medicine. — 2013.

N.N. Gokadze¹, V.Yu. Seltchuk¹, G.I. Krasnotchekova², Yu.G. Payanidi², S.V. Vinokurova², K.I. Zhordania²

Immunocytochemical analysis of aspiration material from the uterine serous ovarian cancer detection

¹Federal State Budgetary Educational Institution «A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation,
²Federal State Budgetary Institution «N.N.Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Objective of the study: To increase the efficiency of the diagnosis of serous ovarian cancer by the method of immunocytochemical (ICC) analysis of the expression of p53, p16, wt1 markers in cells obtained in aspiration material from the uterine cavity.

Materials and methods: The cellular expression of p53, p16 and wt1 markers was determined in aspiration material from uterine cavity of 71 patients with a morphologically confirmed diagnosis of serous ovarian cancer III-IV stages (51 patients with high grade serous carcinoma and 20 patients with low grade). The results were compare with cellular expression of the same markers in groups of patients with benign ovarian tumors (n = 50), patients with secondary (metastatic) ovarian lesions (n = 50) and healthy women (n = 50). The study did not include patients with early stages of ovarian cancer because of too small number of similar cases . For cytological studies, cytopin multilayer preparations of the cytopsin system were obtained. An ICC study was conducted with monoclonal antibodies to p53, p16, wt1.

Results: p53 demonstrated the greatest diagnostic significance in group of patients with high grade serous carcinomas: expression was traced in 31 of 51 observations of serous carcinomas of the ovaries, which amounted to 61%. A positive reaction of wt1 was observed in 24 of 51 cases (47%), p16 expression was observed in 25 of 51 cases (49%). In the group of patients with low grade serous carcinomas (n = 20), in contrast to the group of patients with high grade serous ovarian cancer, a positive reaction of p53 was observed in 3 out of 20 cases (15%), p16 in 2 (10%), but wt1 expressed in samples of 12 (60%) patients. By ICC examination of samples collected from uterine cavity of patients with benign ovarian tumors we identify focal moderate expression of p53 in separate endometrial epithelial calls in 2 cases. Histologically, serous cystadenoma of the ovaries was detected in these patients, and in another 48 samples no positive reactions with antibodies to p53,p16,wt1 were observed. In group of patients with secondary lesion of the ovaries, as well as in the control group, positive marker reactions were not observed.

Conclusions: The increased expression of p53, p16, wt1 markers in cells obtained by aspiration from the uterine cavity during an ICC study can be used as a diagnostic test for high grade serous carcinoma.

Key words: high grade serous ovarian cancer, low grade serous ovarian cancer, aspirate from uterine cavity, predictors, markers, p53, p16, wt1, immunocytochemical method (ICC)

Поступила в редакцию 03.02.2020 г.