

«ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
"НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ОНКОЛОГИИ ИМЕНИ Н.Н. ПЕТРОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ИВАНЦОВ
АЛЕКСАНДР ОЛЕГОВИЧ

КЛИНИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ BRCA1-
АССОЦИИРОВАННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА

14.01.12 – онкология

14.03.02 – патологическая анатомия

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание учёной степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты
Чл.-корр. РАН, д.м.н., проф.
Имянитов Евгений Наумович
Д.м.н., проф.
Насыров Руслан Абдуллаевич

Санкт–Петербург
2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И АББРЕВИАТУР	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
Глава 1. Обзор литературы.....	16
1.1. Принципы морфологической диагностики опухолей	16
1.2. Особенности подготовки опухолевого материала для молекулярно- генетического анализа	21
1.3. Наследственные раки	28
Введение.....	28
1.3.1. Гены BRCA1 и BRCA2	30
1.3.2. Наследственный рак молочной железы.....	32
1.3.3. Наследственный рак яичника	33
1.3.4. Наследственный рак желудка	35
1.4. Морфологические особенности BRCA-ассоциированных опухолей	37
1.4.1. Рак молочной железы	37
1.4.2. Рак яичника.....	41
1.4.3. Рак поджелудочной железы	43
1.4.4. Рак предстательной железы	43
1.4.5. Рак эндометрия.....	44
1.4.6. Первично-множественные опухоли	47
1.4.7. Редкие локализации BRCA1-ассоциированных опухолей	47
1.5. Патоморфологический регресс опухоли после неoadьювантной полихимиотерапии	49

1.5.1. Патоморфологический регресс РМЖ после неоадьювантной химиотерапии	49
1.5.2. Патоморфологический регресс РЯ после НАХТ	56
Глава 2. Материалы и методы исследований	66
Глава 3. Результаты собственных исследований	99
3.1. Рак молочной железы.....	99
3.2. Рак яичника	117
3.3. Рак желудка.....	143
3.4. Редкие типы BRCA1-ассоциированных опухолей	158
ОБСУЖДЕНИЕ	173
ВЫВОДЫ	183
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	185
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	186
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	187
СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.....	210

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И АББРЕВИАТУР

PMЖ	–	рак молочной железы
PЖ	–	рак желудка
PЭ	–	рак эндометрия
PG	–	рак гортани
PTM	–	рак тела матки
PPЖ	–	рак поджелудочной железы
PPC	–	рак предстательной железы
PЯ	–	рак яичников
СЖ	–	слюнные железы
HAХT	–	неoadъювантная химиотерапия
MAIP	–	Международное агенство по изучению рака
ИГХ	–	иммуногистохимический анализ
RCB (Residual Cancer Burden)	–	остаточное содержание опухолевых клеток
ППО (pCR, pathological complete response)	–	полный патоморфологический ответ
ER (estrogen receptor)	–	рецептор эстрогена
PR (progesterone receptor)	–	рецептор прогестерона
CRS (chemotherapy response score)	–	индекс ответа на химиотерапию
EGFR (epidermal growth factor receptor)	–	рецептор эпидермального фактора роста
TMA (tissue microarrays)	–	тканевые микроматрицы
FISH (fluorescence in situ hybridization)	–	флуоресцентная гибридизация in situ
CISH (chromogenic in situ hybridization)	–	хромогенная гибридизация in situ
LOH (loss of heterozygosity)	–	потеря аллеля дикого типа

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Рак молочной железы (РМЖ) и рак яичника (РЯ) входят в число наиболее частых онкологических заболеваний у женщин в мире и в нашей стране [5]. Примерно 5-10% случаев РМЖ и 15-20% РЯ развиваются вследствие присутствия наследственного дефекта в генах BRCA1 или BRCA2 [81, 103]. Наибольший вклад в заболеваемость наследственным РМЖ и РЯ среди славянского населения Российской Федерации вносит инсерция BRCA1 5382insC, доля которой достигает 60-80% от всех повреждений упомянутых генов. Это обстоятельство существенно облегчает генетический скрининг, направленный на выявление наследственных форм рака молочной железы и яичника.

Существенно, что BRCA1-ассоциированные опухоли имеют специфический молекулярный фенотип, отличный от спорадических карцином, и характеризуются особым спектром лекарственной чувствительности. В частности, формирование опухолевого клона обычно сопровождается соматической утратой оставшегося аллеля гена BRCA1. В результате опухолевые клетки характеризуются избирательным дефектом системы репарации двунитевых разрывов ДНК и, как следствие, высокой чувствительностью к производным платины и ингибиторам фермента PARP. Несмотря на столь значимые особенности, BRCA1-мутированные опухоли редко выделяются в отдельную подгруппу в рамках клинических исследований - это затрудняет разработку персонализированных подходов к лечению новообразований данной категории.

Наибольшие возможности для анализа химиочувствительности опухолей предоставляет неоадьювантная химиотерапия (НАХТ) – в данном случае лекарственное лечение применяется в отношении хемонаивных новообразований, а доступность операционного материала позволяет изучать морфологический ответ опухоли на терапию. НАХТ широко применяется для лечения опухолей молочной железы, яичника и целого ряда других новообразований. В некоторых

случаях, например, при лечении РЯ, данный термин используют несколько более широко: действительно, применение предоперационной терапии у пациенток с РЯ зачастую является единственным способом перевода неоперабельного состояния в операбельное. Проведение НАХТ является важным этапом комбинированного лечения злокачественных опухолей; примечательно, что критерии клинической и морфологической оценки эффективности НАХТ подвергаются регулярному пересмотру. Несмотря на огромное количество исследований, посвящённых НАХТ, особенности использования данной разновидности лечения в отношении пациентов с BRCA1-ассоциированными новообразованиями пока не подвергались систематическому изучению.

Данная работа направлена на исследование морфологических особенностей BRCA1-ассоциированных опухолей человека, анализ ответа этой категории новообразований на химиотерапию, а также изучение прогноза онкологических заболеваний у носителей мутаций в гене BRCA1. Полученные данные свидетельствуют о том, что BRCA1-мутированные карциномы значительно отличаются от спорадических новообразований по своим клинико-биологическим характеристикам. Следовательно, индивидуальное планирование лечения целого ряда онкологических пациентов должно осуществляться с учётом статуса гена BRCA1.

Степень разработанности темы

BRCA1-ассоциированные опухоли являются предметом активных исследований ученых на протяжении последних двух десятилетий. За это время был накоплен большой массив данных о частоте и спектре мутаций BRCA1 в разных этнических группах и географически разобщённых популяциях, в том числе среди славянского населения России. Известно, что при генетическом скрининге у славян наиболее часто выявляется мутация BRCA1 5382insC [108, 186]. Были охарактеризованы основные клинико-морфологические особенности BRCA1-ассоциированных новообразований молочной железы и яичника: чаще

всего мутации выявляются среди инвазивных карцином молочной железы с трижды-негативным статусом рецепторов (ER-/PR-/HER2-) и серозных карцином яичника высокой степени злокачественности. Установлено, что наследственные мутации в гене BRCA1 являются предиктором высокой эффективности терапии препаратами платины и ингибиторами PARP [107, 201]. Эти результаты уже вошли в практику и используются для индивидуализированного подбора лечения при раке молочной железы [29, 51]. Тем не менее, до сих пор не сделаны окончательные выводы об эффективности разных схем неoadъювантной химиотерапии у пациенток с BRCA1-ассоциированным раком молочной железы. Так, в работе Byrski et al. эффект неoadъювантной химиотерапии был проанализирован у 102 больных-носительниц мутаций BRCA1. Полный патоморфологический ответ в этой группе был достигнут в 23.5% случаев, при этом его частота существенно варьировала в зависимости от схемы лекарственной терапии и была минимальной при использовании схем CMF (циклофосфамид, метотрексат, фторурацил) и АТ (доксорубицин и доцетаксел), промежуточной – при применении АС (доксорубицин и циклофосфамид) или FAC (фторурацил, доксорубицин, циклофосфамид), и максимальной среди женщин, получавших цисплатин [37]. В другом крупном исследовании доля полного патоморфологического ответа на неoadъювантное лечение при BRCA1-ассоциированном РМЖ составила 46% и не зависела от используемой терапии – схем на основе антрациклинов, включающих или не включающих таксаны [20].

Кроме того, ассоциации между носительством мутаций BRCA1 и опухолями иных, помимо молочной железы и яичников, локализаций, изучены в гораздо меньшей степени. Работ по изучению патоморфологического регресса BRCA1-ассоциированных опухолей яичника после неoadъювантной химиотерапии, а также по оценке влияния этого маркера на прогноз заболевания, в отечественной и зарубежной литературе нет.

Цель исследования

Целью диссертационного исследования является анализ клинко-морфологических особенностей опухолей, развившихся у носителей мутаций в гене BRCA1.

Задачи исследования

1. Проанализировать морфологические и иммуногистохимические особенности (статус рецепторов ER, PR, HER2) BRCA1-ассоциированного рака молочной железы.
2. Оценить клинко-морфологические характеристики BRCA1-ассоциированного рака яичника.
3. Исследовать характеристики патоморфологического регресса первичной опухоли и метастазов в сальник в группах BRCA1-ассоциированных и спорадических карцином яичника после проведения неoadъювантной химиотерапии.
4. Провести анализ внутриопухолевого статуса гена BRCA1 до и после неoadъювантной химиотерапии.
5. Оценить роль наследственных мутаций гена BRCA1 в патогенезе некоторых разновидностей опухолей, которые не входят в стандарты фенотипического проявления BRCA1-ассоциированного синдрома.

Научная новизна исследования

1. Установлены морфологические и иммуногистохимические особенности BRCA1-ассоциированных опухолей молочной железы, позволяющие усовершенствовать показания для BRCA1-диагностики.

2. Показана высокая частота полных патоморфологических ответов и, следовательно, более высокая эффективность неоадьювантной химиотерапии среди пациенток BRCA1-положительным раком молочной железы.

3. Впервые выполнен анализ зависимости длительности бесплатинового интервала (как критерия эффективности неоадьювантной химиотерапии) от степени патоморфологического регресса первичной опухоли и метастатических опухолевых масс большого сальника у пациенток с BRCA1-ассоциированным раком яичника.

4. Впервые показана прогностическая значимость оценки патоморфологического регресса метастатических опухолевых масс большого сальника при BRCA1-ассоциированных опухолях яичника.

5. Впервые продемонстрировано, что неоадьювантная химиотерапия BRCA1-ассоциированного рака яичника приводит к быстрой селекции клеток с сохранной функцией гена BRCA1.

6. Установлена причастность наследственных мутаций в гене BRCA1 к развитию опухолей, обычно не упоминающихся в контексте BRCA1-зависимых новообразований: рака желудка, карциноида легкого, карциносаркомы молочной железы.

7. Показано, что тест на потерю гетерозиготности BRCA1 является эффективным методом подтверждения роли дефектов BRCA1 в патогенезе заболевания.

Теоретическая и практическая значимость

1. Показано, что определение молекулярного статуса гена BRCA1 у пациентов с опухолями молочной железы, яичника, желудка позволяет осуществить селекцию больных для терапии производными платины.

2. Демонстрировано, что показатели продолжительности бесплатинового интервала BRCA1-ассоциированных опухолей яичника после

неoadьювантной химиотерапии существенно выше, чем в спорадических опухолях.

3. Установлено, что степень выраженности ответа метастазов большого сальника на неoadьювантную химиотерапию при BRCA1-ассоциированных опухолях яичника ассоциирована с эффективностью лечения и может использоваться для прогнозирования длительности бесплатинового интервала.

4. Выявлено, что мутации гена BRCA1 наблюдаются не только в часто встречающихся гистологических вариантах опухолей (инвазивный рак молочной железы, серозный рак яичника высокой степени злокачественности), но и редких разновидностях новообразований (карциносаркома молочной железы, нейроэндокринные опухоли). Это позволяет расширить клинические показания для молекулярного тестирования BRCA1.

5. Показано, что уже после нескольких циклов неoadьювантной химиотерапии BRCA1-ассоциированного рака яичника происходит замещение BRCA1-дефицитных опухолевых клеток BRCA1-профицитными клонами. Это наблюдение может объяснять низкую частоту полных морфологических регрессов и высокий риск рецидива заболевания при карциномах яичника.

Методология исследования

Объектами изучения являлись опухоли молочной железы, яичника и желудка.

Рак молочной железы

Исследование проводилось на основании анализа архивной медицинской документации и данных текущего наблюдения за пациентками, находящимися на стационарном обследовании. Из 7028 больных раком молочной железы, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова в 2000-2010 годы, были отобраны 1688 пациенток, которые получали неoadьювантную полихимиотерапию. В исследование были включены женщины моложе 50 лет ($n = 788$), поскольку данная группа характеризуется высоким риском наличия

мутаций BRCA1. Для исследования морфологических факторов ретроспективно был отобран архивный операционный материал, доступный у 462 больных. Источником ДНК для молекулярного анализа служила нормальная ткань молочной железы. Было выполнено генотипирование ДНК с целью обнаружения распространённых в России вариантов мутаций: BRCA1 5382insC [с.5266dupC], BRCA1 4153delA [с.4034delA] и BRCA1 185delAG [с.68_69delAG]. Исследовалась частота полного патоморфологического ответа среди наследственных BRCA1-ассоциированных и спорадических карцином в зависимости от использованных комбинаций химиопрепаратов.

Рак яичника

Из 680 больных раком яичника, проходивших лечение в 2000-2013 годы, были отобраны 308 пациенток, которые получали неоадьювантную полихимиотерапию. Полная клиническая информация была доступна у 250 больных. Для исследования морфологических факторов ретроспективно был отобран архивный операционный материал, доступный у 158 больных. Источником ДНК для молекулярного анализа служила нормальная ткань яичника. Было выполнено генотипирование с целью обнаружения распространённых в России вариантов мутаций: BRCA1 5382insC [с.5266dupC], 4153delA [с.4034delA], и 185delAG [с.68_69delAG]. Исследовались прогностическая значимость степени гистопатологического ответа опухоли на неоадьювантную терапию и длительность бесплатинового интервала в зависимости от изученных факторов.

Рак желудка

В исследование был включен 251 больной метастатическим раком желудка, получавший паллиативную полихимиотерапию в 1999-2010 годы. Для исследования морфологических факторов ретроспективно был отобран архивный биопсийный материал, доступный у 65 больных. Источником ДНК для молекулярного анализа служила нормальная ткань желудка. Было выполнено генетическое тестирование наиболее частой в нашей стране мутации в гене BRCA1 - BRCA1 5382insC [с.5266dupC].

Основные положения, выносимые на защиту

1. BRCA1-ассоциированные опухоли молочной железы и яичника имеют морфологические и иммуногистохимические особенности, отличающие их от спорадических новообразований.
2. BRCA1-ассоциированные опухоли молочной железы характеризуются высокой частотой полного патоморфологического регресса после неoadьювантной полихимиотерапии.
3. BRCA1-ассоциированные опухоли яичника характеризуются высокой степенью выраженности патоморфологического регресса опухоли после неoadьювантной полихимиотерапии и увеличенной длительностью бесплатинового интервала.
4. Рак желудка входит в спектр опухолей, ассоциированных с наследственной мутацией гена BRCA1.
5. Химиотерапия BRCA1-ассоциированного рака яичника сопровождается быстрым замещением BRCA1-дефицитных опухолевых клеток предсуществующими BRCA1-профицитными клонами. Таким образом, в рамках представленной работы идентифицирован новый механизм приобретённой резистентности опухолей к платиносодержащей терапии.

Личное участие автора в получении результатов

Все основные этапы диссертационного исследования, включая анализ архивного материала, формирование базы данных, обработку клинико-морфологических данных и обобщение полученных результатов, выполнены автором лично. Непосредственно автором сформулированы цель, задачи и рабочие гипотезы, научно обоснованы выводы и практические рекомендации. Самостоятельно выполнены анализ данных отечественной и зарубежной литературы в отношении темы работы, гистологические, и иммуногистохимические исследования, а также статистическая обработка

полученных результатов. Молекулярно-генетический анализ гена BRCA1 выполнен совместно с коллективом лаборатории молекулярной онкологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова.

Степень достоверности и апробация результатов

Результаты диссертационного исследования достоверны и обоснованы, что обеспечивается достаточным количеством исследованного материала (462 случая рака молочной железы, 158 случаев рака яичников, 65 случаев рака желудка), использованием современных методов морфологического и молекулярно-генетического исследования, применением адекватных подходов к статистическому анализу полученных данных.

Результаты работы были представлены в докладах на 5-й Российской конференции по фундаментальной онкологии «Петровские чтения -2009» (Санкт-Петербург, Россия, 2009), VII съезде онкологов России (Москва, Россия, 2009), VIII Всероссийском съезде онкологов (Санкт-Петербург, Россия, 2013), III конференции общества специалистов онкологов по опухолям органов репродуктивной системы (Москва, Россия, 2013), II Петербургском онкологическом форуме «Белые Ночи – 2016» (Санкт-Петербург, Россия, 2016), XX Российском онкологическом конгрессе (Москва, Россия, 2016), 28-ом Европейском конгрессе патологии (Кёльн, Германия, 2016), Всероссийской конференции, посвященной 75-летию Центральной патологоанатомической лаборатории МО РФ ВМедА им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия, 2017), V съезде Российского общества патологоанатомов (Челябинск, Россия, 2017), 29-ом Европейском конгрессе патологии (Амстердам, Голландия, 2017), 42-ом Конгрессе Европейского общества медицинской онкологии (Мадрид, Испания, 2017), Всероссийской конференции молодых специалистов «Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии» (Рязань, Россия, 2017), Всероссийской конференции с международным участием «Современные подходы в клинко-морфологической диагностике и лечении

заболеваний человека» (Санкт-Петербург, Россия, 2017), XXII Российском онкологическом конгрессе (Москва, Россия, 2018).

Внедрение результатов исследования в практику

Научные положения, обоснованные в диссертации, используются в преподавании вопросов патологической анатомии наследственных опухолей человека на кафедре патологической анатомии ЧОУ ВПО Санкт-Петербургского медико-социального института, кафедре онкологии ФГБОУ ВПО «Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова» Минздрава России.

Результаты исследования внедрены и используются в практической работе патологоанатомического отделения, хирургического отделения опухолей молочной железы и хирургического онкогинекологического отделения ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, гинекологическом и патологоанатомическом отделениях ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)».

Публикации

Материалы диссертации отражены в 51 опубликованной работе, в том числе 25, рекомендованных Перечнем ВАК РФ. Имеется 1 патент на изобретение.

Структура и объём диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложения. Текст изложен на 218 страницах, иллюстрирован 34

таблицами, 98 рисунками, 3 схемами. Список литературы включает 214 источников.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Принципы морфологической диагностики опухолей

Большинство заболеваний человека сопровождаются характерными изменениями гистологической структуры отдельных органов и систем, которые являются основным объектом морфологической диагностики. Прижизненная морфологическая диагностика опухолей относится к необходимым компонентам современной клинической и экспериментальной онкологии. Развитие хирургических малоинвазивных технологий позволило относительно легко получать из организма пациента фрагменты тканей, изменённых патологическим процессом, и подвергать их гистологическому исследованию. Результаты такого анализа затем учитываются лечащим врачом для постановки клинического диагноза заболевания и выбора методов лечения.

Объектом исследования, как правило, является фрагмент ткани, который зафиксирован в формалине, обезвожен в спиртах восходящей плотности и заключён в парафин. Данная процедура позволяет выполнить срезы толщиной 3 микрометра и подвергнуть их стандартной окраске - гематоксилином и эозином, при этом ядра клеток и другие базофильные структуры маркируются ярко-синим основным красителем гематоксилином, в то время как спиртовой кислый краситель эозин окрашивает цитоплазму красно-розовым цветом (рис. 1).

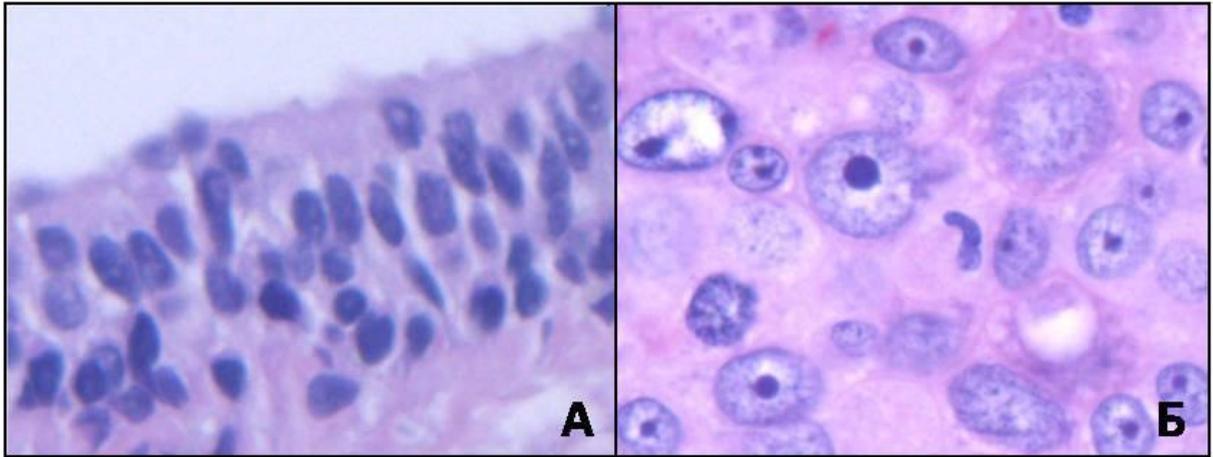


Рис. 1. А. Эпителий протока молочной железы; Б. Инвазивный рак молочной железы. Ядра клеток окрашены гематоксилином, цитоплазма - эозином, х400

Микроскопическая диагностика онкологических заболеваний представляет собой результат сопоставления исследуемого образца с «эталонной» гистологической структурой, характерной для конкретной анатомической области, а также с клиническими данными и результатами «объёмных» (лучевых) методов диагностики (рис. 2).

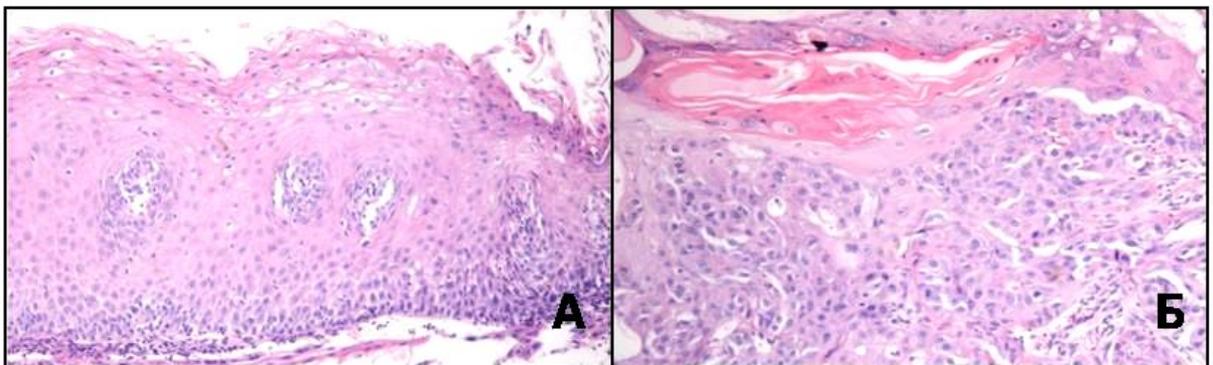


Рис. 2. А. Типичный плоский эпителий полости рта; Б. Ороговевающий плоскоклеточный рак полости рта, окрашенный гематоксилином и эозином, х50

Для трансформированной ткани характерными чертами является утрата типичной гистоархитектоники и появление опухолевых клеток со специфической структурной организацией в совокупности с признаками клеточной атипии (увеличение размера ядер, увеличение ядерно-цитоплазматического соотношения, патологические митозы, появление крупных ядрышек и т.д.). В ряде случаев опухоль может иметь сходные микроскопические характеристики тканевой

принадлежности с аналогичными структурами, которые присутствуют в организме в норме.

В настоящее время определение гистологического типа опухоли и стандартных маркеров агрессивности (степень дифференцировки, митотическая активность и т.д.) является недостаточным для назначения индивидуализированной терапии. Яркой иллюстрацией эволюции диагностических подходов в патоморфологии является рак лёгкого. Еще недавно условное клиническое деление всех первичных эпителиальных опухолей лёгкого на мелкоклеточный и немелкоклеточный рак определяло стратегию лекарственной терапии. Сейчас для принятия решения требуется знать, к какому конкретному гистологическому подтипу немелкоклеточных карцином относится данный случай. Это связано с открытием активирующих мутаций в гене EGFR, которые являются избирательной мишенью для воздействия препаратов-ингибиторов данного онкогенного рецептора - gefitiniba, erlotiniba и т.д. Оказалось, что чаще всего мутация EGFR встречается у пациентов с аденокарциномой лёгкого. Таким образом, актуальной задачей для патоморфологов стала дифференциальная диагностика между аденокарциномой и другими гистологическими разновидностями рака лёгкого. Особую сложность представляют случаи, когда классификация гистологического типа опухоли затруднена из-за маленького размера образца или утраты опухолевыми клетками способности к образованию структур (низкая степень дифференцировки). В таких случаях установить гистогенез опухоли можно, применив иммуногистохимический метод окрашивания (ИГХ).

Иммуногистохимическое окрашивание точно локализует в клетке и тканях интересующий белковый маркер (антиген) благодаря его связыванию с мечеными антителами. Каждая опухоль характеризуется уникальным набором ткане- и цитоспецифических антигенов. Последовательное проведение уточняющих иммуногистохимических реакций с антителами к опухоль-ассоциированным антигенам позволяет создать детальный «портрет» новообразования и установить правильный диагноз. Например, в подавляющем большинстве случаев в

первичных аденокарциномах лёгкого выявляется специфический ядерный белок TTF-1 (Thyroid Transcription Factor 1). Положительная ядерная экспрессия этого маркера позволяет исключить метастатическую природу поражения лёгкого и направить пациента на молекулярное тестирование мутаций EGFR (рис. 3).

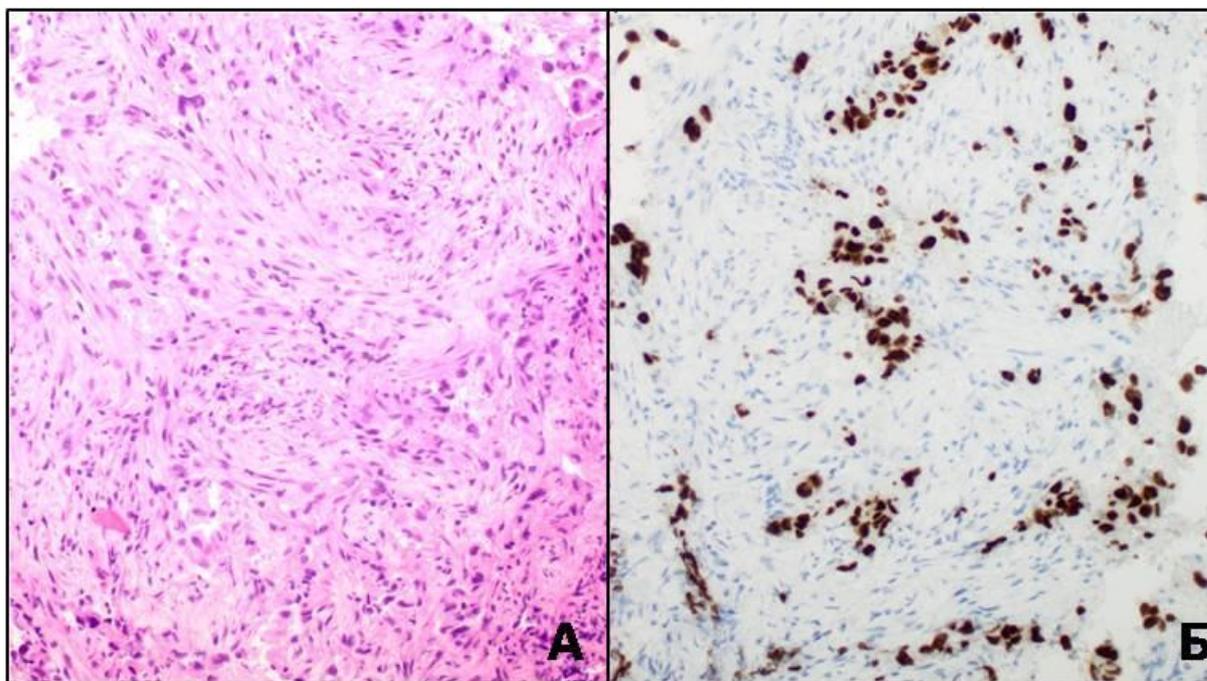


Рис. 3. А. Низкодифференцированная аденокарцинома лёгкого (среди фиброзной ткани отдельно расположенные разбросанные опухолевые клетки), окраска гематоксилином и эозином, x100; Б. Положительная иммуногистохимическая реакция с антителом к ТТФ-1 в ядрах опухолевых клеток, x100

Важным шагом в технологическом развитии онкоморфологии стало внедрение в практику тканевых микроматриц (Tissue microarrays – TMA). По сути, это парафиновый блок, в котором упорядоченно расположены фрагменты тканей, извлечённые из заранее определенных участков других парафиновых «блоков-доноров». Современные устройства для TMA позволяют размещать в одном парафиновом блоке до 200 столбиков опухолевой ткани диаметром 0.6-1.5 мм, что существенно облегчает и удешевляет процесс скрининговых исследований с использованием метода ИГХ.

К высокотехнологичным цитогенетическим методам, востребованным в диагностике злокачественных опухолей, также относят флуоресцентную и

хромогенную гибридизацию *in situ* (FISH и CISH). В обоих методах используют специфические ДНК-зонды, которые связываются с комплементарными мишенями в опухолевом образце и маркируют положение интересующего фрагмента ДНК на метафазных хромосомах или в интерфазных ядрах. Для анализа результатов FISH требуется флуоресцентный микроскоп, в то время как препараты с CISH можно оценивать и в обычном светооптическом микроскопе. С помощью описанных методов, например, производится детекция делеции хромосомы 17 у больных с наследственным BRCA1-ассоциированным раком яичника в образцах опухоли, полученных до и после проведения цитостатической платиносодержащей НАХТ. Результаты данного теста позволяют исследовать биологические свойства опухоли (внутриопухолевую гетерогенность, чувствительность к химиотерапии и т.д.) с целью индивидуализации лекарственной терапии (рис. 4).

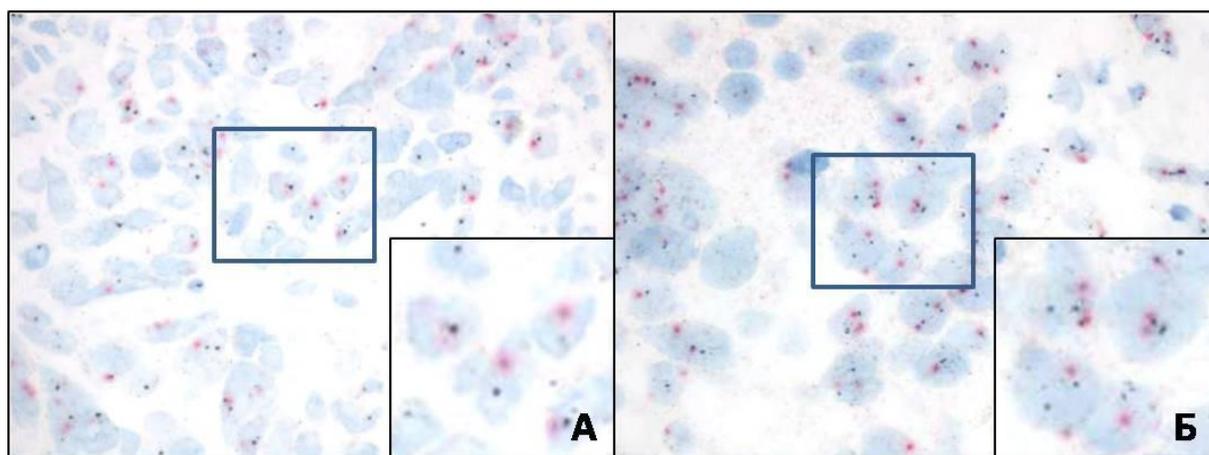


Рис. 4. Хромогенная гибридизация *in situ*: соматическая делеция хромосомы 17 у больной BRCA1-ассоциированным раком яичника в образцах до (1 красный сигнал в ядрах опухолевых клеток – центромера 17 хромосомы) (А) и после (2 красных сигнала в ядрах опухолевых клеток) (Б) неoadьювантной химиотерапии, x200, на вкладках x400

Таким образом, в настоящее время патоморфология переживает фундаментальные изменения, связанные с интеграцией в диагностику новейших представлений о молекулярной патологии раковых клеток. Современные технологии в патоморфологической микроскопической диагностике позволяют

успешно распознавать и классифицировать злокачественные новообразования, а также оценивать прогностические, предиктивные факторы, получать сведения о гетерогенности опухолей и эволюции популяций раковых клеток в процессе терапии.

1.2. Особенности подготовки опухолевого материала для молекулярно-генетического анализа

Неотъемлемым компонентом современной диагностики опухолей стал молекулярно-генетический анализ. Он включает исследование нуклеотидной последовательности генов и использует в качестве матрицы как хромосомальную ДНК, так и генные транскрипты - РНК. Многие варианты молекулярно-генетического тестирования выполняются на пределе разрешающих возможностей методов. Это может быть связано с низким качеством и скудным количеством изучаемого биологического материала, деградацией нуклеиновых кислот при фиксации тканей, риском контаминации и т.д. Поэтому важнейшим компонентом молекулярного анализа опухолей является оптимальная подготовка биологического материала, предназначенного для исследования [214].

Материалом для молекулярно-генетического исследования могут служить самые различные образцы – кровь, ткань опухоли, выпотная жидкость, цитологические мазки-отпечатки и т.д. Наиболее распространён анализ фрагментов опухолевой ткани, полученных в ходе операции или биопсии. Подавляющее большинство молекулярно-генетических тестов полностью адаптировано к стандартным процедурам обработки операционного или биопсийного материала, применяемым в каждом патологоанатомическом отделении. Сразу после забора исследуемый образец обычно фиксируется формалином для предотвращения процесса аутолиза, после чего материал находится в спиртах восходящей плотности и заключается в парафин. В таком

виде он многие десятилетия хранится в архиве патологоанатомических лабораторий.

К результатам, полученным посредством молекулярно-генетического анализа архивных тканей, до конца 1990-х гг. большинство специалистов относилось с некоторым недоверием. Действительно, нуклеиновые кислоты могут значительно разрушаться при фиксации и хранении образцов, что создаёт определённые сложности для анализа РНК и ДНК. По этой причине многие молекулярные генетики длительное время отдавали предпочтение использованию свежемороженых тканей – участков опухолей, подвергнутых моментальной заморозке жидким азотом и хранящимися при низких температурах до выделения ДНК или РНК. Использование свежемороженого материала связано с целым рядом ограничений – техническими и организационными проблемами, сопряжёнными с забором, хранением и доставкой образцов, а также с обнаружением и диссекцией непосредственно опухолевых клеток. В последнее десятилетие именно анализ архивных тканей стал стандартом медико-биологических исследований, а также элементом рутинной диагностики [191]. Сравнительные характеристики пригодности архивного и свежемороженого материала для молекулярно-генетических исследований представлены в табл. 1.

Таблица 1

Пригодность архивного и свежемороженого материала для молекулярно-генетических исследований

Критерии	Ткани, заключённые в парафин	Свежемороженые ткани
Доступность	Высокая	Ограниченная
Клинические данные, включая сведения об отдалённых результатах лечения	Доступна ретроспективная клиническая информация	Зачастую ограничены
Возможности морфологической визуализации исследуемых участков опухоли	Достаточные	Ограниченные
Возможности для диссекции опухолевых клеток	Достаточные	Ограниченные
ДНК	Частично деградирована	Хорошая сохранность
РНК	Частично деградирована	Хорошая сохранность
Белки	Образование различных модификаций, утрата биологической активности	Хорошая сохранность; биологическая активность белков зачастую необратимо утрачивается в процессе заморозки, поэтому функциональный анализ ферментов требует работы со свежим материалом

Проведение молекулярно-генетического анализа возможно только на основании чёткого морфологического исследования опухоли. При этом патолог

должен учитывать весь набор предстоящих лабораторных процедур (иммуногистохимическое исследование, флюоресцентная гибридизация *in situ*, молекулярный анализ и т.д.) и попытаться рассчитать объём опухоли, необходимой для каждого аналитического этапа. В некоторых ситуациях наличие репрезентативного архивного материала требуется для включения пациента в клинические испытания. Поэтому патологоанатом должен хорошо ориентироваться в лечебно-диагностических мероприятиях, связанных с разновидностями опухолевых процессов, и обсуждать с лечащими врачами требования к индивидуальному забору материала в каждом конкретном случае.

Целый ряд факторов оказывают влияние на сохранность и качество нуклеиновых кислот в опухолевом образце. Процесс аутолиза начинается непосредственно с момента перевязки питающих сосудов в ходе операции. Период после перевязки питающих артерий, в течение которого ткань остаётся в организме больного (т.е. при температуре 37°C), называется временем тепловой ишемии. Его продолжительность в большей степени зависит от объёма и содержания операции, технических обстоятельств её проведения, а также квалификации хирурга. Для тканей молочной железы, мозга, кожи время тепловой ишемии невелико, тогда как для желудка, лёгкого, щитовидной железы оно может составлять от 30 минут до 1 часа. Время тепловой ишемии может не оказывать влияния на целостность РНК [156], но может отражаться на уровне экспрессии некоторых генов.

После хирургического удаления образец переносят из операционной в патологоанатомическое отделение для макроскопического изучения. Этот временной интервал зависит от внутренней организации деятельности оперблока. Считается, что период от момента забора материала до его погружения в формалин не должен превышать 30 мин. Хотя в условиях реальной клинической практики его продолжительность иногда составляет несколько часов.

Задержка фиксации может непредсказуемо оказывать влияние на результаты молекулярно-генетического анализа, особенно на уровень экспрессии РНК-транскриптов определённых генов.

Фиксация тканей формалином необходима для прекращения процессов аутолиза, которые возникают в образце. Формалин быстро проникает в поверхность образца (1 мм/час), однако в более глубоких отделах ткани фиксация наступает через несколько часов. Установлено оптимальное соотношение объёмов формалина и ткани, которое должно составлять не менее 10:1 [88]. Минимальное время нахождения в формалине образца толщиной 3 мм составляет 6-8 часов [79].

Последовательное погружение тканей в спирты восходящей плотности направлено на устранение воды из образца и насыщения его парафином. Этот приём позволяет получить тонкие срезы тканей, что необходимо для визуализации гистологического препарата. Длительное нахождение тканей в спиртах обеспечивает лучшее качество РНК, а остаточная вода в образце приводит к её гидролизу [46].

Обработка костных фрагментов кислотой (декальцинация) осуществляется перед проводкой в спиртах. Данная методика значительно разрушает нуклеиновые кислоты. Образцы после декальцинации не пригодны для молекулярного исследования.

Биологические ткани состоят из разных типов клеток, которые формируют сложные трёхмерные структуры. Проблема клеточной гетерогенности является основным препятствием на пути генетического тестирования опухолевой и неопухолевой тканей, так как интересующая группа клеток может представлять малую долю от общего объёма ткани. Поэтому техника тканевой микродиссекции связывает этапы морфологического и молекулярного анализа. В отношении замороженных срезов, парафиновых блоков, цитологических препаратов могут применяться различные варианты диссекции. Продуктом микродиссекции являются участки «очищенных» опухолевых клеток с минимальным «загрязнением» неопухолевыми элементами. Преимущества и ограничения разных типов микродиссекции приведены в табл. 2.

Типы микродиссекции

Критерии	Ручная микродиссекция	Лазерная микродиссекция
Минимальный размер образца	50-100 мкм	<1 мкм
Спектр использования	Крупные клеточные поля ($>10^4$ клеток)	Мелкие поля (<50 клеток), единичные клетки
Оборудование	Игла, скальпель	Микроманипулятор
Длительность процедуры	5-10 мин, для $>10^4$ клеток	От 10 сек до 10 мин, для 1-10 клеток
Стоимость	Низкая	Высокая
Преимущества	Простота, скорость	Высокая точность, низкий риск контаминации
Ограничения	Высокий риск контаминации, неприменимо для мелких объектов (<50 клеток)	Высокая стоимость процедуры

Ручная микродиссекция заключается в соскабливании опухолевой ткани с неокрашенного стекла. Для этой процедуры необходим скальпель, микропрепарат с исследуемой тканью, микроскоп. Патолог изучает срез, окрашенный гематоксилином и эозином, и отмечает участки с преобладанием опухолевых структур более 80%. Затем берут несколько срезов, непосредственно прилегающих к окрашенному препарату. Микродиссекция проводится посредством наложения неокрашенного среза поверх среза, окрашенного гематоксилином и эозином, после чего зоны опухолевых клеток соскабливают с поверхности стекла. Количество срезов, предназначенных для диссекции опухоли, зависит от потребностей молекулярно-генетического тестирования. Материал, полученный из 5-20 срезов толщиной 5 мкм, достаточен для проведения анализа. Для предотвращения загрязнения образца неопухолевыми элементами используют прибор для создания тканевых микроматриц. Для этого

необходимый участок извлекают из парафинового блока и создают новый блок. Затем выполняют срезы, из которых выделяют ДНК и РНК. Рекомендуется использовать 2 столбика ткани для снижения рисков, связанных с гетерогенностью опухоли [38]. В случаях высокой гетерогенности исследуемого фактора в популяции опухолевых клеток используют несколько участков препарата [78, 136].

Каждая генетическая лаборатория может самостоятельно устанавливать минимальные требования к количеству и соотношению опухолевых клеток в образце. Некоторые методики, например, секвенирование ДНК по Сэнгеру, требуют как минимум 50%-го содержания опухолевой ДНК в препарате. Более чувствительные разновидности молекулярного тестирования позволяют работать с материалом, который содержит 1-10% трансформированных клеток. Информация о соотношении опухолевых и нормальных клеток должна быть доведена до молекулярного генетика. От этого зависит выбор метода исследования, а, следовательно, получение достоверного результата [126].

Цитологический материал также пригоден для всех разновидностей молекулярно-генетического анализа [143]. Цитологические образцы могут быть предоставлены в виде окрашенных цитологических стёкол, цитоблоков, цитоспинов и т.д. Для проведения молекулярного теста может быть достаточно всего 1 стекла, который содержит не менее 50 опухолевых клеток. В сложных случаях на исследование направляют материал нескольких цитологических стёкол.

Таким образом, преаналитический этап молекулярно-генетического исследования – это многоэтапный комплекс трудоёмких мероприятий, требующий для достижения наилучшего конечного результата слаженного взаимодействия онколога, хирурга, патолога и молекулярного генетика.

1.3. Наследственные раки

Введение

Наследственные опухолевые синдромы – это группа заболеваний, проявление которых связано с передачей из поколения в поколение практически фатальной предрасположенности к тому или иному виду рака. Их доля в структуре онкологических патологий достигает 5-10%. В литературе доступны сведения о более чем 200 наследственных опухолевых синдромах. Многие семейные раки связаны с дефектами в опухолевых супрессорах – генах, которые участвуют в поддержании необходимых клеточных функций, в первую очередь, стабильности генома, и тормозят чрезмерное деление клеток. Их роль может быть существенна на разных этапах репарации ДНК, в частности, детекции нарушения, восстановлении повреждённой ДНК, прекращении её репликации. В некоторых случаях, например, в клетках с чрезмерно повреждённой ДНК, ген-супрессор инициирует механизм клеточной гибели (апоптоза).

У гетерозиготного носителя патогенной мутации в клетках органов-мишеней наряду с дефектным аллелем присутствует также функциональный аллель «дикого типа», поэтому она остаётся фенотипически нормальной. Согласно теории «двойного удара» (two-hit hypothesis) для формирования клона, склонного к злокачественному росту, необходима соматическая инактивация «здорового» аллеля, сопровождающаяся полной утратой соответствующей функции [106] (рис. 5).

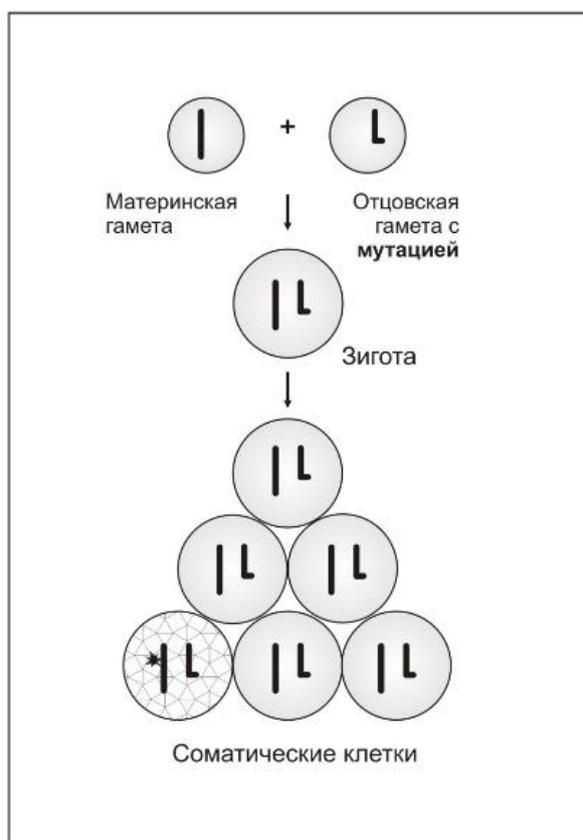


Рис. 5. «Двухударная» модель возникновения раковых синдромов

Герминальная мутация присутствует во всех клетках организма, поэтому вероятность возникновения опухолей исключительно велика. Основанием для осуществления генетической консультации больного может служить необычно ранний возраст заболевания, присутствие семейного анамнеза, возникновение первично-множественных опухолей. Пенетрантность патогенных мутаций может быть обусловлена её локализацией в тех или иных фрагментах последовательности гена, наличием генетических модификаторов, гормональными и внешнесредовыми факторами. Стиль жизни, репродуктивное поведение и т.д. также могут влиять на возраст реализации наследственной предрасположенности [7, 11, 14, 22, 53, 59, 99, 105].

1.3.1. Гены BRCA1 и BRCA2

Наиболее известными и клинически значимыми генами наследственного рака молочной железы (PMЖ) и яичника (PЯ) являются BRCA1 и BRCA2.

Доказательства существования гена BRCA1 были получены при анализе семей с историей опухолей молочной железы; в 1994 году он был клонирован [85, 142]. BRCA1 располагается на длинном плече 17-й хромосомы (17q21) и кодирует ядерный фосфопротеин, который играет ключевую роль в процессах репарации двухцепочечных разрывов ДНК при помощи гомологичной рекомбинации. Ген BRCA2 находится на длинном плече 13-й хромосомы в позиции 13q12.3 [213]. Совместно с другими супрессорными молекулами, белки BRCA1 и BRCA2 формируют крупный ферментативный комплекс, известный как BRCA-ассоциированный комплекс сохранения целостности ДНК (BASC).

Кроме того, BRCA1/2 участвуют в ремоделировании хроматина, регуляции, транскрипции и посттрансляционной модификации белков (присоединение одного или нескольких мономеров убиквитина к боковым аминокетильным группам белка-мишени), осуществлении переключения фаз клеточного цикла [96].

Встречаемость в общей популяции носителей мутации гена BRCA1 варьирует от 1:800 до 1:1000 [23]. Мутации генов BRCA1 и BRCA2 ответственны примерно за 5-10% заболеваемости PMЖ. Носительство мутации BRCA1 сопряжено с 57-90%-ным риском развития PMЖ в течение жизни и примерно 40%-ной вероятностью развития рака яичников (PЯ) к возрасту 70 лет [8, 25, 109, 171].

Кроме того, взаимодействие с другими белками системы репарации ДНК (BARD1, CTIP, NBS1, RAD50 и т. д.) может оказывать влияние на риски развития PMЖ и PЯ [151]. Некоторые особенности гинекологического анамнеза женщины (возраст наступления первой беременности, закончившейся родами, длительность лактации и использование оральных контрацептивов) могут иметь

противоположный эффект на риск развития РМЖ у носителей мутации BRCA1/2 и у BRCA-негативных женщин [66].

Число известных инактивирующих аллелей в гене BRCA1 исчисляется тысячами вариантов. BRCA1 – крупный ген, имеющий несколько различных транскриптов. Его протяженность составляет 81.1 тысяч пар оснований, он содержит 24 экзона. Ген BRCA2 состоит из 27 экзонов. Генетическое тестирование некоторых этнических групп упростилось после открытия так называемых «founder»-мутаций в генах BRCA1/2. Сохранение генетического однообразия при длительной изоляции отдельных популяций из-за географических, социальных или религиозных причин получило название «founder-эффекта» («эффекта основателя»). Повышение частоты инбридинга в этих замкнутых популяциях приводит к увеличению встречаемости мутаций, присутствовавших у предков. Вследствие этого редкие аллели становятся в данной ограниченной группе людей относительно распространёнными [97]. Наиболее подробно founder-эффект исследован среди евреев-ашкенази. В этой этнической группе распространены РМЖ-ассоциированные мутации BRCA1 5382insC, BRCA1 185delAG и BRCA2 6174delT. С другой стороны, некоторые мутации широко распространены по всему миру (например, 5382insC или 185delAG). К регионам, для которых характерен эффект основателя, относятся Исландия, Сардиния, Французская Канада. У славянского населения России в отношении наследственных форм РМЖ и РЯ также наблюдается «founder-эффект» [108, 186]. Наиболее частым повреждением в нашей стране является инсерция BRCA1 5382insC. Другая распространённая в России мутация - делеция BRCA1 4153delA - впервые была выявлена у пациенток с семейными случаями РМЖ в России, а затем в соседних странах (Польше, Литве, Белоруссии и Латвии). Мутации BRCA2, в отличие от BRCA1, в России встречаются сравнительно редко. Таким образом, применение диагностической панели из четырех основных мутаций - BRCA1 5382insC, BRCA1 4153delA, BRCA1 185delAG, BRCA2 6174delT - позволяет выявлять большую долю (> 80%) случаев наследственных РЯ и РМЖ в Российской Федерации [102, 187, 199].

1.3.2. Наследственный рак молочной железы

РМЖ - самое частое онкологическое заболевание среди женщин. Доля наследственно обусловленного РМЖ может варьировать от 5 до 10%. В свою очередь, приблизительно 30% случаев РМЖ с клиническими признаками наследственного заболевания ассоциированы с мутациями в генах BRCA1/2 [132].

Индивидуальный риск развития РМЖ драматичным образом возрастает, если выявлены мутации в генах BRCA1 и BRCA2. Для носительниц мутации в гене BRCA1 средний кумулятивный риск развития РМЖ к возрасту 70 лет обычно составляет 57-65% [8, 109]. Для сравнения, риск развития РМЖ у BRCA2-гетерозигот находится в пределах 45-49% [15]. У носительниц мутаций BRCA1 риск развития РМЖ значительно увеличивается при отягощенном семейном анамнезе и может достигать 87% [71]. При этом у носительниц мутации в гене BRCA2 с отягощенным семейным анамнезом риск развития РМЖ составляет 84% [72]. Вероятность развития двухстороннего (билатерального) метакронного РМЖ у BRCA-гетерозигот ассоциируется с возникновением первой опухоли в молодом возрасте [34]. Verhoog et al., 2000, установили, что ежегодный риск развития рака во второй железе у пациенток с BRCA1-опосредованным РМЖ в возрасте до 41 года составляет 4.5%. В возрастной группе 41-50 лет этот риск возрастает до 6.3%, в то время как в группе больных старше 60 лет риск развития контрлатерального РМЖ стремится к нулю [205].

Аналогичные наблюдения были представлены в исследовании Graeser et al., 2009. По данным этих авторов, у носительниц мутаций в гене BRCA1 развитие контрлатерального РМЖ в течение 25 лет после постановки первичного диагноза наблюдается у половины всех больных. При этом у пациенток с BRCA1-ассоциированным РМЖ в возрасте до 40 лет риск возникновения контрлатерального РМЖ в дальнейшие 25 лет достигает 62.9%. У заболевших

BRCA1-опосредованным РМЖ после 50 лет риск развития контралатерального РМЖ не превышает 19.6% [80].

1.3.3. Наследственный рак яичника

Рак яичника – одна из распространённых злокачественных опухолей у женщин с чрезвычайно неблагоприятным прогнозом. По данным мировой статистики, проанализированной в МАИР (Международное агенство по изучению рака), в 2012 г. среди всех злокачественных новообразований у женщин смертность и заболеваемость РЯ занимала 7 место (6,1 и 3,7 на 100 000 женщин соответственно). В развитых и развивающихся странах показатели заболеваемости РЯ составили 9.1 и 5.0 на 100 000 женщин соответственно [67]. Раннее выявление рака яичников сталкивается с огромными затруднениями [141]. Это неблагоприятно сказывается на результатах лечения распространённого РЯ [203].

Тщательное изучение молекулярных механизмов РЯ позволило более персонализированно определять терапевтические стратегии. До 20% серозного РЯ высокой степени злокачественности обусловлены носительством наследственных мутаций генов BRCA1/2 [157, 174]. В половине наблюдений у больных РЯ выявляются соматические повреждения BRCA1 и других генов, связанных с репарацией ДНК [39]. Злокачественные карциномы с подобным молекулярным профилем восприимчивы к лечению ДНК-повреждающими агентами (цисплатином) и ингибиторами PARP (Poly-(ADP-ribose)-polymerase – поли-(АДФ-рибоза)-полимераза) [107].

До недавнего времени эпителиальные РЯ делили на 2 группы с учётом гистологического типа опухоли, клинического течения, молекулярного профиля. Опухоли 1 типа представлены серозными новообразованиями с низкой степенью злокачественности, светлоклеточными карциномами, эндометриоидными аденокарциномами и муцинозными карциномами. Опухоли второго типа - это

серозные карциномы высокой степени злокачественности, эндометриоидные карциномы высокой степени злокачественности, низкодифференцированные РЯ, а также карциносаркомы. Для опухолей второго типа характерно агрессивное клиническое течение. В некоторой доле серозных карцином высокой степени злокачественности выявляют высокий уровень геномной нестабильности, а наличие повреждения гена TP53 находят более чем в 90% случаев. Повреждения PIK3CA и RAS встречаются в половине наблюдений. При этом частота точковых соматических мутаций относительно невысока, а чаще наблюдаются амплификации генов [110, 118].

Выявление BRCA1/2-ассоциированных РЯ до последнего момента сталкивалось со значительными техническими организационными затруднениями, поэтому количество работ, представляющих эту разновидность карцином, представляется ограниченным [57]. Наиболее часто цитируется крупное ретроспективное исследование Alsop et al., 2012. Авторы провели анализ гистологических типов РЯ, в которых встречаются мутации гена BRCA1. Установлено, что мутации в гене BRCA1 наблюдаются чаще при опухолях серозного гистологического типа опухолями яичников (118 из 709 больных; 16.6%); у пациенток с серозной карциномой яичников высокой степени злокачественности (98 из 433 больных) частота мутаций достигала 22.6%. Средний возраст больных РЯ с наследственной мутацией BRCA1 на момент постановки диагноза был ниже, чем у женщин без мутаций (53.4 года против 60.5 лет, $p < 0.0001$). Возраст клинических проявлений заболевания ассоциировался с мутационным статусом BRCA1/2. У 22.2% женщин моложе 50 лет с РЯ была выявлена мутация BRCA1/2, в то время как в группе женщин, у которых РЯ развился после 50 лет, мутации BRCA1/2 обнаруживались лишь в 12.1% ($p < 0.001$). У 19.4% больных отмечалсяотягощённый семейный онкологический анамнез, а среди BRCA-ассоциированных больных РЯ данный показатель составил 44% [14].

В ещё одном ретроспективном исследовании Madore et al., 2010, изучили частоту патогенных мутаций BRCA1/2 у женщин с эндометриоидной карциномой

яичника. Частота мутаций составила 8.4% (10 из 119 больных). Однако после проведённого иммуногистохимического исследования в 8 случаях диагноз был изменён с эндометриоидной карциномы на низкодифференцированную серозную карциному или на неспецифицированную аденокарциному [133].

Таким образом, характерным гистологическим подтипом для BRCA1/2-опосредованного РЯ является серозная карцинома.

1.3.4. Наследственный рак желудка

Ежегодно рак желудка (РЖ) поражает около 1 миллиона человек. РЖ занимает четвёртую позицию в структуре онкологических заболеваний и встречается реже, чем опухоли лёгкого, молочной железы, толстой кишки [160]. Мужчины болеют чаще женщин: стандартизованные показатели мировой заболеваемости РЖ равняются 22 случаям и 10 случаям на 100 000 человек в год соответственно. Подобная разница характерна лишь для РЖ т.н. «кишечного» типа [52]. В 2012 г. в России было зарегистрировано 37 369 новых больных РЖ [4], в том числе 1263 – по Санкт-Петербургу [5]. РЖ чаще всего диагностируется на распространённой и, следовательно, инкурабельной стадии из-за бессимптомного течения на ранних этапах заболевания. На ранние формы РЖ в России приходится от 5 до 10% случаев болезни, в то время как у 60% больных РЖ диагностируется на поздних стадиях [3]. Встречаемость РЖ антрального отдела незначительно снижается, а распространённость кардиального РЖ сохраняется на прежнем уровне с тенденцией к росту [129]. Низкий показатель 5-летней выживаемости больных РЖ составляет 20%. В индустриально развитых странах, в которых принят стандарт ранней диагностики, от РЖ удаётся излечить каждого четвёртого заболевшего [27].

Для больных неоперабельным РЖ химиотерапия является методом выбора, что доказано рядом клинических исследований, но результаты лечения остаются неудовлетворительными. Диапазон медианы продолжительности жизни

варьирует от 6 до 11 мес. [9, 208]. Для РЖ отсутствует «золотой стандарт» химиотерапии, несмотря на появление новых препаратов. И результаты лечения этой патологии остаются скромными [31]. Кроме того, выраженная токсичность вынуждает онкологов балансировать между ожидаемой эффективностью и осложнениями лечения.

Наследственно-обусловленные случаи РЖ - достаточно редкое явление. Значительная доля подобных наблюдений связана с мутациями гена-супрессора CDH1, который расположен на 16-й хромосоме (16q22.1) и отвечает за клеточную адгезию [28]. Международный Консорциум по раку желудка следующим образом определил клинические критерии наследственного диффузного РЖ: 1. Два случая диффузного РЖ у родственников 1-2 степени родства (при этом у одного из больных рак должен быть диагностирован в возрасте до 50 лет). 2. Три (или более) случая диффузного РЖ у родственников 1-2 степени родства, независимо от возраста [35]. В разных этнических группах частота мутаций CDH1 у пациентов с наследственным РЖ может варьировать от 0 до 40% [35]. Риск развития РЖ у носителя мутации в гене CDH1 достигает 80% [70].

В доступной литературе сведения о роли наследственных мутаций BRCA1 у больных РЖ носят ограниченный характер и представлены в эпидемиологических исследованиях семей с наследственными повреждениями BRCA1. Известно, что носительство мутаций этого гена повышает риск РЖ как у женщин, так и у мужчин [74]. При анализе шведских семей с наследственными мутациями в гене BRCA1 и отягощенным семейным анамнезом встречаемость больных РЖ в возрасте до 70 лет в 2 раза превышала среднепопуляционную (1.88% против 0.92%) [26]. В аналогичном ретроспективном исследовании 29 семей с наследственной мутацией BRCA1 Johannsson et al., 1999, подтвердили повышенную заболеваемость РЖ у женщин ($p = 0.005$) наряду с РМЖ и РЯ ($p < 0.0001$) [101].

1.4. Морфологические особенности BRCA-ассоциированных опухолей

1.4.1. Рак молочной железы

Среди пациенток с наследственным РМЖ приблизительно 25-30% случаев заболевания ассоциированы с наследственными мутациями в одном из двух высокопенетрантных генов: BRCA1 или BRCA2. Тестирование на предмет носительства мутаций BRCA1/2 имеет важное значение, поскольку влияет на выбор вариантов лечения [166]. Выполнение полного анализа BRCA1 и BRCA2 является достаточно дорогостоящим и трудоемким. Однако BRCA1/2-ассоциированные опухоли имеют некоторые морфологические особенности, что может быть использовано для выделения группы пациентов для направления на генетический анализ.

Ассоциации между стандартными морфологическими параметрами опухоли и микроокружения (митотический индекс, плеоморфизм ядер опухолевых клеток (nuclear grade), формирование опухоли тубулярных структур, тип роста опухоли (трабекулярный, синцитиальный тип), характер краёв опухоли, наличие некрозов, степень лимфоцитарной инфильтрации) и присутствием наследственных мутаций в генах BRCA1/2 изучены достаточно подробно [18, 33, 60, 100, 113]. Трабекулярный тип роста и высокий митотический индекс (более 50 митозов на 10 полей зрения при 400-кратном увеличении) часто наблюдаются у пациенток с BRCA1-ассоциированным РМЖ в возрасте до 40 лет [190]. Точное определение гистологического подтипа опухоли может способствовать формированию целевых групп для генетического тестирования. В медулярных карциномах частота мутаций BRCA1/2 может достигать 19%. При этом мутации BRCA1 встречаются значительно чаще, чем BRCA2. Отметим, что доля медулярного рака в спектре гистологических типов РМЖ составляет всего лишь 1-7%. Кроме

того, в BRCA1/2-ассоциированных карциномах достоверно чаще выявляются выраженный полиморфизм ядер, синцитиальный тип роста опухоли, умеренная или выраженная моноклеарная инфильтрация, отсутствие внутримитозного компонента. Фактически, вышеперечисленные морфологические признаки относятся к классическим критериям постановки морфологического диагноза «медуллярная карцинома» [61]. Разные авторы пришли к противоположным выводам о возможностях оценки сосудистой инвазии в предсказании статуса генов BRCA1/2 [87, 135]. Кроме особенностей морфологии первичной опухоли, была оценена взаимосвязь между статусом BRCA1/2 и поражением регионарных лимфатических узлов. Установлено, что мутации BRCA1/2 сами по себе не являются предиктором метастатического поражения регионарных лимфоузлов [154].

В настоящее время описаны ассоциации иммуногистохимического профиля опухоли и статуса BRCA1/2. Результаты ряда исследований продемонстрировали отсутствие экспрессии рецепторов эстрогена (estrogen receptor, ER) в BRCA1-ассоциированных РМЖ [73, 158]. Кроме того, в них чаще всего отсутствует экспрессия рецепторов прогестерона (PR) и HER2/неу, то есть опухоли проявляют «трижды негативный фенотип» [22, 63, 114]. Большинство BRCA1-ассоциированных карцином экспрессируют цитокератины [115, 146] и относятся к «базальной» молекулярной подгруппе РМЖ [188].

В крупнейшем многоцентровом исследовании, опубликованном в 2012 году, были систематизированы сведения о морфологических особенностях BRCA1/2-ассоциированных опухолей молочной железы (табл. 3).

Морфологическая характеристика BRCA-ассоциированных карцином молочной железы [137]

Критерии	BRCA1 n (%)	BRCA2 n (%)
Морфология		
Инвазивный протоковый рак	2387 (80)	1515 (83)
Инвазивный дольковый рак	67 (2.2)	153 (8.4)
Медуллярный рак	281 (9.4)	40 (2.2)
Другие	258 (8.6)	116 (6.4)
Статус рецепторов		
ER(-)	625 (22)	1475 (77)
PR(-)	539 (21)	1084 (64)
HER2(-)	138 (10)	121 (13)
Трижды-негативный	901 (68)	133 (16)

Медиана возраста на момент постановки диагноза составила 40 лет среди BRCA1- и 43 года среди BRCA2-носительниц. Гистологический тип большинства инвазивных карцином у женщин с мутациями BRCA1 и BRCA2 был представлен протоковой/неспецифической (NST – по special-type) карциномой – 80% и 83% случаев, соответственно. Это самая частая эпителиальная злокачественная опухоль молочной железы. Дольковые карциномы в 4 раза чаще ассоциировались с BRCA2-носительством, в то время как медуллярные карциномы – с мутациями BRCA1. Трижды-негативный фенотип наблюдался в 68% BRCA1-ассоциированных опухолей, в то время как карциномы, связанные с мутациями BRCA2, относились к этой категории в 16% наблюдений. Существенно, что в практической деятельности пациентка зачастую направляется на молекулярное

тестирование после выявления трижды-негативного иммунофенотипа опухоли на амбулаторном этапе. Это позволяет выявить мутации у пациенток с отсутствующим или неуточнённым семейным анамнезом. При этом часть больных с положительным рецепторным статусом опухоли не проходит генетическое исследование. В работе Mavaddat et al., 2012, также было показано, что доля ER-негативных и трижды негативных РМЖ уменьшается с возрастом у носительниц мутаций BRCA1, и, напротив, увеличивается среди носительниц BRCA2-гетерозигот. В обеих группах ER-негативные карциномы обладали более высокой степенью злокачественности (grade) по сравнению с ER-позитивными РМЖ [137].

С точки зрения морфологических особенностей BRCA2-ассоциированные карциномы представляют собой достаточно гетерогенную группу. По сравнению со спорадическими новообразованиями эта категория наследственных опухолей отличается низкой степенью дифференцировки. При этом частота ER-позитивных опухолей у носительниц мутаций BRCA2 не отличается от спорадического контроля, в то время как гиперэкспрессия HER2/neu встречается значительно реже [114, 204].

Попытки создания иммуногистохимических панелей, которые позволили бы предсказывать BRCA-статус, пока не увенчались успехом. Оригинальные панели для скрининга BRCA1/2-ассоциированных карцином (MS110, lys27H3, vimentin, Ki-67), продемонстрировавшие достаточно высокие показатели чувствительности и специфичности (83% и 81% соответственно) [86]. Изучение морфологических особенностей стволовых клеток в наследственном РМЖ иммуногистохимическим методом не дало положительных результатов. Исследование внутриопухолевой гетерогенности, основанное на подсчете количества изолированных ALDH-1-позитивных стволовых клеток, не выявило различий между BRCA1/2-ассоциированными и спорадическими карциномами [183].

1.4.2. Рак яичника

Поверхностные эпителиальные карциномы составляют около 90% всех злокачественных опухолей яичника, две трети которых – серозные. Несколько реже встречаются иные гистологические подтипы: светлоклеточные, эндометриоидные и муцинозные.

В крупном исследовании клинко-морфологического статуса BRCA-ассоциированных РЯ Mavaddat et al., 2012, приводят сведения о 838 BRCA1- и 281 BRCA2-мутированных опухолях (табл. 4). Значительную долю (67%) BRCA1/2-ассоциированного РЯ составили серозные карциномы. В большинстве наблюдений BRCA1-ассоциированные РЯ отличались высокой степенью злокачественности (Grade 3). Характерным являлась множественность онкологической патологии: в описываемой работе у трети женщин с мутациями BRCA1/2 сначала развился РМЖ, затем РЯ. Существенных различий по морфологии и степени дифференцировки опухоли между BRCA1- и BRCA2-носителями ($p > 0.05$, для всех сравнений) выявлено не было [137].

Таблица 4

Морфологическая характеристика BRCA1/2-ассоциированного рака яичника [137]

		BRCA1 n (%)	BRCA2 n (%)	Итого n (%)
Морфология	Серозный рак	534 (66)	191 (70)	725 (67)
	Муцинозный рак	11 (1)	4 (1)	15 (1)
	Эндометриоидный рак	94 (12)	33 (12)	127 (12)
	Светлоклеточный рак	8 (1)	8 (3)	16 (1)
	Другие	166 (20)	36 (13)	202 (19)
	Итого	813	272	1085

У многих практических онкологов сформировалось неверное стереотипное представление о том, что лишь опухоли с серозной морфологией следует направлять на молекулярное тестирование. Это приводит к тому, что при других поверхностных эпителиальных РЯ оценка статуса BRCA1/2 не выполняется. Работа Mavaddat et al., 2012, а также некоторые другие исследования, указывают на то, что спектр BRCA1-ассоциированных РЯ не ограничивается серозными карциномами.

В настоящее время известно о некоторых особенностях роста наследственного РЯ. В отличие от спорадического РЯ, метастазы BRCA1/2-ассоциированных карцином растут «широким фронтом» (pushing pattern – округлая линейная или гладкая граница между опухолью и окружающими тканями), либо микропапиллярным типом (скопления опухолевых клеток без сосудистого стержня, окруженные зонами сдавления). Установлено, что микропапиллярный тип инвазии ассоциируется с неблагоприятным течением заболевания. У большинства больных РЯ развивается рецидив, если в метастатических опухолевых узлах наблюдается микропапиллярный тип инвазии [92, 172].

Микроокружение BRCA1/2-ассоциированного РЯ также имеет определённые отличия. В BRCA2-ассоциированных серозных карциномах высокой степени злокачественности, по сравнению со спорадическими РЯ, преобладает стромальный компонент. Однако соотношение опухолевых клеток и стромы $<70\%$ или $\geq 70\%$ не оказывает влияние на общую выживаемость [148].

Soslow et al., 2012, предложили оригинальный алгоритм выявления BRCA1/2-ассоциированных опухолей, включающий анализ морфологии, некрозов, митотического индекса; чувствительность этого алгоритма составила 1,0, а специфичность – 0.57. Исследователями было установлено, что в BRCA1/2-ассоциированных серозных карциномах чаще встречается солидный, псевдоэндометриоидный и переходноклеточно-подобный типы роста, высокий митотический индекс, большое количество внутриопухолевых лимфоцитов, комедонекрозы. В BRCA2-ассоциированных РЯ реже встречались некрозы и

внутриопухолевые лимфоциты. Большое количество учитываемых факторов и невысокая специфичность, однако, не позволили методике войти в широкую практику [189].

1.4.3. Рак поджелудочной железы

Рак поджелудочной железы (РПЖ) занимает восьмую позицию по частоте в структуре онкологической заболеваемости [67]. Публикации о доле BRCA1-опосредованного РПЖ среди всех случаев РПЖ носят единичный характер. Вклад мутаций BRCA1 в общую заболеваемость РПЖ не превышает 1% [69, 116, 120]. В то же время, в работе Holter et al., 2015, оценена встречаемость наследственных мутаций BRCA1/2 у больных РПЖ, которая составила 4.6% (14 из 306 больных) - это существенно выше по сравнению с результатами остальных публикаций. При этом BRCA1 мутация была выявлена лишь в 1% случаев (3 из 306 больных), а BRCA2 - в 3.6% наблюдений (11 из 306 больных). Во всех случаях определён гистологический тип опухоли – дуктальная аденокарцинома [91]. Некоторые исследования изолированных этнических групп (евреи-ашкенази) показали, что мутации BRCA1 185delAG, BRCA1 5382insC и BRCA2 6174delT выявляются преимущественно при дуктальных аденокарциномах, реже - при интрадуктальных папиллярных муцинозных карциномах и нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы. Встречаемость мутаций BRCA1/2 в группе больных дуктальной аденокарциномой составила 21.6% [131].

1.4.4. Рак предстательной железы

По-видимому, лишь небольшая часть случаев рака предстательной железы (РПС) обусловлена мутациями в генах BRCA1/2. Как правило, у этих больных в семейном анамнезе есть BRCA1/2-ассоциированный РМЖ. Многочисленные

исследования демонстрируют отсутствие принципиальных морфологических и иммуногистохимических отличий BRCA1/2-ассоциированных карцином предстательной железы. К примеру, в работе Gallagher et al., 2010, во всех случаях наследственные мутации (3% от общего числа проанализированных больных) были обнаружены при ацинарных аденокарциномах. Мутации BRCA2 при этом встретились чаще, чем BRCA1. В большинстве BRCA2-ассоциированных карцином степень дифференцировки опухоли (сумма баллов по Глиссону) была ≥ 7 [75]. Результаты исследования степени дифференцировки наследственного РПС Thompson et al., 2005, показали, что сумма баллов по Глиссону в BRCA1/2-ассоциированных карциномах была ≥ 8 [198]. Известно, что доброкачественные и предопухолевые изменения (атрофия, доброкачественная гиперплазия предстательной железы, хронический простатит, базальноклеточная гиперплазия, атипичная аденоматозная гиперплазия, атипичная мелкоацинарная пролиферация), простатическая интраэпителиальная неоплазия, неблагоприятные особенности морфологического строения (перинеуральная и лимфоваскулярная инвазия, экстрапростатическое распространение, нейроэндокринные черты строения, вовлечение семенных пузырьков) существенно не различаются между BRCA-ассоциированными и спорадическими опухолями [41, 77]. Изучив особенности пролиферативной активности наследственного РПС, Mitra et al., 2010, установили, что повышенный уровень клеточной пролиферации (иммуногистохимическая экспрессия Ki-67 $>3,5\%$) наблюдался в 71% BRCA1/2-ассоциированных опухолей предстательной железы и 67% спорадических РПС [144].

1.4.5. Рак эндометрия

Рак эндометрия (РЭ) в некоторых странах занимает одно из лидирующих мест в структуре злокачественных опухолей женских половых органов [48, 64]. Распространенность РЭ в РФ выросла с 71.4 до 166.3 случаев на 100 тысяч

населения с 1993 по 2015 год [5]. Относительный показатель смертности больных РЭ в мире остается на сравнительно низком уровне (1.8 на 100 тысяч) и имеет тенденцию к уменьшению [211], скорее всего благодаря современным методам лечения болезни. При заболевании эндометриоидным РЭ всех стадий пятилетняя выживаемость достигает 83%, тогда как при папиллярном или светлоклеточном РЭ – 53% и 62%, соответственно [64].

В крупном исследовании Segev et al., 2013, изучили риск возникновения РЭ у женщин с наследственными мутациями в генах BRCA1 и BRCA2. Для этого в проспективное исследование было включено 4456 женщин с положительным BRCA1/2 статусом. Было выявлено 17 женщин с РЭ (13 наблюдений – у женщин с мутациями BRCA1, 4 наблюдения – у женщин с мутациями BRCA2). Стандартизованный уровень заболеваемости для BRCA1-носителей составил 1.91 (95% CI: 1.06-3.19, $p = 0.03$) и для BRCA2 носителей – 1.75 (95% CI: 0.55-4.23, $p = 0.2$). Таким образом, авторы установили, что риск РЭ у женщин с мутацией BRCA1 выше, чем в основной популяции [182]. В аналогичном исследовании Bruchim et al., 2010, изучили риск развития серозной карциномы тела матки у носителей мутаций BRCA1/2. У 8 (25.8%) из 31 пациенток с серозным РЭ были выявлены мутации: 4 – BRCA2 (6174delT), 2 – BRCA1 (185delAG), 2 – BRCA1 (5382insC). Средний возраст больных с мутацией составил 64 года, в то время как в группе спорадических больных РЭ - 74 года ($p = 0.124$). У 4 носительниц мутаций BRCA1/2 (50%) и 2 (8%) больных спорадическим РЭ выявлен семейный анамнез (PMЖ, РЯ) ($p = 0.026$). По мнению авторов, высокая частота мутаций BRCA1/2 мутаций у больных серозным РЭ позволяет расценивать данную опухоль как проявление наследственного синдрома PMЖ и РЯ [36]. В крупном ретроспективном исследовании Lavie et al., 2010, оценили частоту мутаций BRCA1 и BRCA2 у больных серозным РЭ и изучили взаимосвязь возникновения РЭ с семейным анамнезом (семейный PMЖ-РЯ). В исследуемую группу последовательно были включены все больные с диагнозом серозный РЭ за 9-летний период. Все больные перенесли тотальную гистерэктомию, билатеральную сальпингоофорэктомию, оментэктомию. У 25.5% (13 из 51)

больных серозным РЭ опухолевый процесс носил первично-множественный характер – у них был диагностирован метахронный РМЖ, у 17 (33.3%) пациентов были родственники первой степени родства с РМЖ или РЯ. В 15.7% (n = 8) наблюдений была выявлена наследственная мутация гена BRCA1 [119]. Levine et al., 2001, изучили риск возникновения эндометриоидного РЭ у пациентов с мутациями BRCA1/2 и установили, что риск возникновения эндометриоидного РЭ не увеличен по сравнению с общей популяцией. В ретроспективное исследование были последовательно включены 199 больных с РЭ. Наследственные мутации в генах BRCA1/2 выявлены у 3 (1 в BRCA1 и 2 в BRCA2) из 199 (1.5%) больных эндометриоидным РЭ. Утрата аллеля BRCA дикого типа наблюдалась в 2 из 3 BRCA-ассоциированных опухолей. Относительный риск развития BRCA-ассоциированного эндометриоидного РЭ составил 0.75 (95% CI = 0.24—2.34; p = 0.6) [127].

Pennington et al., 2013, исследовали частоту возникновения наследственных мутаций в различных генах у больных серозным РЭ. Анализу были подвергнуты образцы от 151 пациентки. Была выполнена оценка молекулярного статуса 30 генов-супрессоров опухолевого роста, в том числе: BRCA1, BRCA2, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, TP53. У 7 (4.6%) больных РЭ выявлены наследственные мутации с утратой функции гена, в том числе 3 (2.0%) наблюдения с мутацией в гене BRCA1. Полученные результаты позволяют полагать, что имеются достаточные основания для тестирования BRCA1/2 статуса больных серозным РЭ [164]. В аналогичном исследовании Biron-Shental et al., 2006, провели ретроспективный анализ статуса BRCA1/2 у больных с гистологически подтверждённым серозным РЭ. В исследование включены 22 больные серозным РЭ (евреи Ашкенази. При молекулярном тестировании наследственные мутации BRCA1/2 были выявлены у 6 (27%) пациенток (3 BRCA2-6174delT, 2 - BRCA1-185delAG, 1 - BRCA1-5382insC). При этом 3 пациентки болели РМЖ, а у 4 носительниц мутации в семейном анамнезе выявлены опухоли у родственников первой степени родства (3 –РМЖ, 1 - РЯ) [30].

1.4.6. Первично-множественные опухоли

Известно, что по сравнению с общей популяцией у носителей мутаций BRCA1/2 чаще развиваются синхронные и метасинхронные опухоли. В среднем, у 16% больных BRCA1/2-ассоциированным РМЖ через 5 лет после выявления первой опухоли развивается контралатеральная метасинхронная неоплазия. В большинстве случаев (более 90%) у носительниц мутаций BRCA1 с первым ER-негативным РМЖ вторая опухоль также не экспрессирует эстрогеновые рецепторы, в то время как у 70% пациентов с первой ER-положительной карциномой вторая опухоль молочной железы ER-негативна. У носителей мутаций BRCA2 данная закономерность выражена значительно слабее [137]. Несколько реже у больных с BRCA1/2-ассоциированным РМЖ развивается метасинхронный РЯ, значительно реже РЖ или РПЖ [83, 153]. Описано развитие до 4 первично-множественных метасинхронных опухолей у носителей повреждений BRCA1/2 [173, 209].

1.4.7. Редкие локализации BRCA1-ассоциированных опухолей

Известны случаи идентификации мутаций BRCA1/2 у больных с плоскоклеточным раком гортани (РГ). Jaworowska et al., 2009, изучили частоту мутаций BRCA1 среди больных РГ в польской популяции. В ретроспективный анализ были последовательно включены 430 больных РГ в период 2001-2006 гг. Сведения о ещё 3 BRCA1-ассоциированных пациентах с РГ получены из общей базы интернационального центра по изучению наследственного рака. Проведена оценка статуса мутаций BRCA1 (C61G, 4153delA, 5382insC), распространённых в Польше (более 90% всех наблюдений). BRCA1-мутация C61G обнаружена у 3 пациентов, 5382insC – у 2 больных. Во всех случаях это были мужчины, возраст которых варьировал от 45 до 58 лет (медиана 52,4 года). У 80% больных (4 из 5

пациентов) заболевание выявлено на III или IV стадии. Во всех наблюдениях установлен гистологический тип опухоли - плоскоклеточный РГ. Степень дифференцировки опухоли была определена как G2/3 - у 2 больных, G2 - у 2 других пациентов. Кроме того, во всех гистологических образцах опухоли отмечалась высокая пролиферативная активность – 15-45 митозов на 10 полей зрения большого увеличения (x400). У 2 больных впоследствии были отмечены послеоперационные локальные метастазы в лимфоузлы и, несмотря на комбинированную терапию, которая включала ларингэктомию, диссекцию лимфатических узлов шеи, послеоперационную радиотерапию, оба скончались в течение 1 года после операции вследствие генерализации опухолевого процесса. У 1 больного спустя 6 месяцев после ларингэктомии (pT3N0) развились метастазы в правом лёгком, по этому поводу он перенёс лобэктомию с адьювантной химиотерапией. Пациент наблюдался каждые 6 месяцев без рецидива. Более того, у 1 больного (pT3N0) безрецидивный период после ларингэктомии составил 7 лет, в то время как 3 пациента погибли от диссеминированного процесса в течение 1 года наблюдения [98].

Новообразования слюнных желёз (СЖ) возникают достаточно редко, причём чаще встречаются доброкачественные опухоли СЖ. Shen et al., 2014, сравнили частоту возникновения опухолей СЖ в большой когорте BRCA-ассоциированных больных и в общей популяции. В ретроспективный анализ были включены родословные 187 больных РМЖ (США). В совокупности выявлено 5754 родственников с доступными клиническими и анамнестическими данными. Преимущественно в родословной отслеживалось 3 поколения. В ходе работы было выявлено 2 карциномы околоушной железы, 2 неспецифических (not otherwise specified, NST) карциномы слюнной железы, 1 - аденоиднокистозная карцинома. В 2 наблюдениях не подтвердился положительный BRCA статус, поэтому частота BRCA-ассоциированных опухолей слюнной железы составила 3 из 5754 (0.052%). Полученный результат существенно выше частоты возникновения опухолей данной локализации в общей популяции (3 (0.003%) на 100 000 в год, $p < 0.001$) [184].

1.5. Патоморфологический регресс опухоли после неоадьювантной полихимиотерапии

1.5.1. Патоморфологический регресс РМЖ после неоадьювантной химиотерапии

Неоадьювантная химиотерапия (НАХТ) широко применяется для лечения РМЖ. Полный патологический ответ (ППО) используется как оценочная конечная точка определения эффективности новых лекарственных препаратов в клинических испытаниях [62] и является превосходным прогностическим показателем [51]. В литературе описана взаимосвязь между частотой региональных рецидивов заболевания и наличием остаточной опухоли в молочной железе и лимфатических узлах. Однако точная оценка исходного ложа опухоли зависит от правильного определения локализации опухоли и отбора фрагментов ткани для микроскопического исследования. Тщательное макроскопическое исследование препарата предопределяет достоверное выявление ППО. Распространённость остаточной опухоли может повлиять на конечный результат исследования и решение о проведении дальнейшей местной или региональной терапии [134]. Поэтому стандартизация оценки результатов НАХТ в операционном образце приобретает первостепенное значение. В настоящее время существуют несколько классификаций оценки патоморфологического ответа РМЖ на неоадьювантную системную терапию [16, 44, 65, 112, 167, 194]. Все они имеют определённые преимущества и ограничения. Большинство из них подтверждают взаимосвязь между гистопатологическим ответом и безрецидивной и общей продолжительностью жизни пациенток [45, 163, 175, 180, 194]. Однако разные системы стадирования по-разному оценивают будущие риски [50].

Классификация RCB (Residual Cancer Burden) является онлайн-инструментом для количественной оценки остаточной опухоли, который прост в применении, воспроизводим на практике и клинически подтвержден длительным наблюдением за больными [162]. Кроме того, постоянно разрабатываются новые классификации с учётом различных биомаркеров, которые дополняют традиционные гистологические прогностические параметры. Например, в некоторых исследованиях используется Residual Proliferative Cancer Burden (остаточное пролиферативное опухолевое бремя) – этот показатель объединяет систему RCB с индексом пролиферативной активности опухоли (Ki-67) после лечения [185]. Также существуют комбинированные клинические и патоморфологические системы, учитывающие стадию заболевания до начала лечения, патологические изменения опухоли после лечения, рецепторный статус опухоли и т.д. [145]. Подобные комбинации демонстрируют перспективу интеграции дополнительной клинической и биологической информации с системой RCB для прогнозирования исхода лечения. В некоторых государствах для определения остаточной опухолевой нагрузки были разработаны собственные национальные руководства для оценки РМЖ после НАХТ, например, в Бельгии [117], Германии [17], Великобритании [152], США [49]. Подходы к оценке образца опухолевой ткани в них несколько отличаются.

Часто НАХТ назначается в условиях протокола клинического исследования. Адекватная обработка, анализ опухолевого образца может оказать влияние на конечный результат, поэтому патологоанатомы вовлекаются в процесс с самого начала испытания [128]. Во многих многоцентровых исследованиях НАХТ у больных РМЖ стандарты обработки, оценки и интерпретации микропрепаратов остаточной опухоли соблюдаются не в полной мере. Например, во французском многоцентровом исследовании с использованием системы Chevallier [43] количество ППО снизилось двукратно после повторного пересмотра препаратов специалистами центральной лаборатории [56]. Существенно, что определение полного патологического ответа трактуется по-разному. В зависимости от используемого определения, различные подходы к оценке ППО приводят к

значительным изменениям в ассоциациях с продолжительностью жизни пациенток. Достигнуто определённое согласие относительно того, что наличие остаточной опухоли в аксиллярных лимфоузлах свидетельствует о более неблагоприятном прогнозе РМЖ, даже если в ложе опухоли клетки инвазивной карциномы не выявлены [139, 207].

Таким образом, в настоящее время определение ППО включает отсутствие инвазивной опухоли в ложе опухоли и аксиллярных лимфатических узлах. Не достигнут консенсус о роли остаточной протоковой карциномы *in situ* (DCIS) в ППО [104, 176, 202]. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (the US Food and Drug Administration, FDA) провело анализ 12 рандомизированных исследований неoadъювантной терапии с длительным наблюдением больных РМЖ. У пациенток с полным отсутствием инвазивной карциномы не были обнаружены различия в безрецидивной и общей выживаемости в зависимости от наличия или отсутствия остаточной внутрипротоковой карциномы *in situ* [51]. Исследование небольшой группы больных из MD Anderson Cancer Center показало отсутствие различий в исходе заболевания для пациенток с $ypT0ypN0$ и $ypTisypN0$ [139]. FDA рекомендует использовать ППО в качестве конечного результата исследования («end-point») у больных с ранним РМЖ высокого риска. Кроме того, FDA поддержала стандартизацию определения полного патоморфологического ответа. Для будущих исследований предложено использовать $ypT0/isypN0$ или $ypT0ypN0$ [51, 202].

У больных с наследственным РМЖ роль ППО после НАХТ изучена достаточно подробно. Byrski et al., 2010, исследовали частоту ППО после НАХТ у 102 пациенток с BRCA1-ассоциированным РМЖ. Одним из критериев включения являлся возраст больных, который не должен был превышать 50 лет на момент постановки диагноза. В рамках исследования пациенткам с РМЖ проводилось тестирование 3 распространённых в Польше founder-мутаций (5382insC, C61G и 4153delA). В целом, частота мутаций в гене BRCA1 составила 5.8% (400 из 6880 больных). В 78% (n = 79) наблюдений была выявлена мутация BRCA1 5382insC, в

19% (n = 19) - BRCA1 C61G, у 4 больных РМЖ – BRCA1 4153delA. Отсутствие инвазивной карциномы в области первичной опухоли и аксиллярных лимфатических узлах при микроскопическом исследовании операционного препарата расценивалось в качестве ППО, который был достигнут в 23.5% случаев (n = 24). Некоторые морфологические особенности строения опухолей чаще встречались в BRCA1-ассоциированном РМЖ. В частности, у больных РМЖ с размером опухоли менее 2 см в наибольшем измерении ППО встречался чаще по сравнению с опухолями большего размера (44% против 22%, p = 0.21). Кроме того, ППО наблюдался чаще в опухолях с низкой дифференцировкой по сравнению с высокой и умеренной (38% против 10%; p = 0,15). По результатам анализа иммуногистохимического профиля опухолей было установлено, что в группе РМЖ с HER2-негативным статусом ППО достигался чаще, чем в HER2-позитивном РМЖ (27% против 17%; p = 0.60). С другой стороны, тренда увеличения количества ППО в зависимости от статуса ER или PR, статуса аксиллярных лимфатических узлов не наблюдалось [37]. В аналогичном исследовании Charpuis et al., 2002, показали высокую частоту ППО после НАХТ среди больных с BRCA-ассоциированным РМЖ - 44% (4 из 9 больных) [42].

Известно, что безрецидивная и общая продолжительность жизни больных BRCA1-ассоциированных РМЖ с ППО выше, чем у пациенток с резидуальной опухолью после НАХТ. Arun et al., 2011, сравнили количество ППО после НАХТ, безрецидивную и общую продолжительность жизни у больных РМЖ с мутациями BRCA1 и BRCA2. Критериям включения соответствовали 317 пациенток. Мутации BRCA1 и BRCA2 выявлены у 57 (18%) больных и 23 (7%) пациенток, соответственно. В 46% (26 из 57) BRCA1-ассоциированных РМЖ достигнут ППО, в то время как среди носителей мутаций BRCA2 ППО отмечен в 13% случаев (3 из 23). В группе больных спорадическим РМЖ ППО после НАХТ был достигнут в 22% (53 из 237 больных). При статистическом анализе было установлена достоверная ассоциация между ППО и положительным BRCA1-статусом (p = 0.002) и негативным ER-статусом РМЖ (p = 0.03). Значимых различий в продолжительности жизни в зависимости от BRCA1/2-статуса и гистологического

типа опухоли не выявлено. Безрецидивная ($p = 0.001$) и общая ($p = 0.01$) выживаемость среди больных с BRCA1-ассоциированным РМЖ с ППО была выше, чем у больных с частичным регрессом опухоли [20].

Значительная доля больных трижды-негативным BRCA1/2-ассоциированным РМЖ достигают ППО после НАХТ. Vignon et al., 2018, изучили безрецидивную и общую выживаемость у больных трижды-негативным РМЖ с мутациями BRCA1/2 с ППО после НАХТ. В ретроспективный анализ были включены 53 больных РМЖ: 46 с BRCA1-, 6 с BRCA2- и 1 пациентка с 2 мутациями - BRCA1 и BRCA2. Трижды-негативный фенотип опухоли являлся критерием включения пациентки в исследование. Больные с трижды-негативным BRCA-опосредованным РМЖ достигли ППО после НАХТ в 42.6% ($n = 23$) наблюдений [95% CI, 26%-55%] ППО достигнут у 38.3% больных с мутацией BRCA1 и у 66% больных с мутацией BRCA2. Медиана наблюдения составила 4.4 года (0,62-16,2 лет) и статистически не отличалась в группах BRCA1- и BRCA2-опосредованного наследственного РМЖ ($P = 0.25$). Продолжительность безрецидивного периода ($p < 0.01$) и общая выживаемость ($p < 0.01$) были существенно лучше в группе наследственного РМЖ с ППО, чем в группе больных РМЖ с неполным регрессом опухоли [29]. В аналогичном по дизайну исследовании Paluch-Shimon et al., 2016, оценили продолжительность жизни больных трижды негативным РМЖ с ППО после НАХТ. Анализу подверглись 80 больных трижды-негативным РМЖ с известным BRCA1-статусом (34 носителя BRCA1 и 43 спорадических РМЖ). В группе BRCA1-опосредованных опухолей ППО встречался существенно чаще, чем в контрольной группе, 68% против 37% ($p = 0.01$). При этом показатели выживаемости не отличались у женщин с мутациями BRCA1 и у больных ненаследственным РМЖ с ППО. В ходе работы установлено, что степень патоморфологического ответа не влияет на продолжительность безрецидивной продолжительности жизни пациенток с BRCA1-ассоциированным РМЖ ($p = 0.25$), в то время как безрецидивная выживаемость больных спорадическим РМЖ была выше при наличии ППО по сравнению с частичным регрессом резидуальной опухоли ($p < 0.0001$). Авторы

делают вывод, что в группе BRCA1-ассоциированных РМЖ частота ППО выше, чем в группе спорадических РМЖ, однако ППО не приводит к увеличению безрецидивной выживаемости [159].

Nahnen et al., 2017, изучили влияние выбора комбинации лекарственных препаратов на частоту ППО после НАХТ у больных трижды-негативным РМЖ. Проспективный эксперимент включал оценку влияния добавления карбоплатина к комбинации антрациклина, таксанов, бевацизумаба, карбоплатина у больных трижды-негативным РМЖ. Критериям включения соответствовала 291 больная. Количество ППО в группе трижды-негативных РМЖ с НАХТ, включающей карбоплатин, составило 56.8% (83 из 146), без добавления карбоплатина к НАХТ – 41.4% (60 из 145) ($p = 0.009$). Наследственные мутации BRCA1 и BRCA2 были выявлены у 17.2% (50 из 291 больных). В группе больных наследственным РМЖ ППО был достигнут 66.7% (16 из 24 больных) наблюдений [84].

По мнению некоторых авторов, целевой группой для молекулярного тестирования статуса BRCA являются женщины с трижды-негативным РМЖ в возрасте до 50 лет. В крупном исследовании Wang et al., 2015, изучили частоту наследственных мутаций BRCA1/2 в китайской популяции. В целом, наследственная мутация BRCA1 была обнаружена в 7.1% наблюдений (68/956), BRCA2 - у 2.3% (22/953) пациентов, а среди больных РМЖ в возрасте до 50 лет доля BRCA1 и BRCA2 мутаций составила 10.5% и 3.0% соответственно. ППО после НАХТ отмечен у 31.6% пациенток. В BRCA1-ассоциированных РМЖ ППО встречался чаще, чем в группе спорадических опухолей (53.8% против 29.7%, $p < 0.001$). Отличий в продолжительности безрецидивного периода среди BRCA1-ассоциированных и спорадических опухолей выявлено не было ($p = 0.82$) [210]. Авторы исследования заключили, что женщины с трижды-негативным РМЖ в возрасте до 50 лет являются целевой группой для молекулярного тестирования статуса генов BRCA1 и BRCA2.

Результаты основных исследований роли патоморфологического регресса РМЖ после НАХТ суммированы в табл. 5.

Таблица 5

Основные исследования, посвященные роли полного патоморфологического регресса РМЖ после НАХТ

Исследования	Объект	Доля опухолей с мутацией BRCA1	Критерии ППО	Клинические результаты
Charpuis, 2002	36 больных РМЖ	У 11 пациенток была выявлена BRCA1 и BRCA2 мутации	Отсутствие инвазивной карциномы в области первичной опухоли и аксиллярных лимфатических узлах	Частота ППО после НАХТ среди больных с BRCA-ассоциированным РМЖ составила 44%
Byrski, 2010	102 больных РМЖ; возраст до 50 лет	100%. В 78% (n = 79) BRCA1 5382insC, 19% (n = 19) - BRCA1 C61G, у 4 – BRCA1 4153delA.	Отсутствие инвазивной карциномы в области первичной опухоли и аксиллярных лимфатических узлах	Частота ППО составила 23.5% случаев (n = 24).
Arun, 2011	317 больных РМЖ	Мутации BRCA1 выявлены у 57 (18%) больных	Отсутствие инвазивной карциномы в области первичной опухоли и аксиллярных лимфатических узлах	Частота ППО составила 46% (26 из 57) BRCA1-ассоциированных РМЖ. В группе больных спорадическим РМЖ ППО достигнут в 22% (53 из 237).

Исследования	Объект	Доля опухолей с мутацией BRCA1	Критерии ППО	Клинические результаты
Wang, 2015	956 больных РМЖ	Мутация BRCA1 была обнаружена в 7.1% (68/956) случаев	Отсутствие инвазивной карциномы в области первичной опухоли и аксиллярных лимфатических узлах	Частота ППО составила 53.8% BRCA1-ассоциированных РМЖ. В группе больных спорадическим РМЖ ППО достигнут в 29.7% ($p < 0.001$).
Paluch-Shimon, 2016	80 больных РМЖ с трижды негативным фенотипом опухоли	34 носителя BRCA1 и 43 спорадических РМЖ	Отсутствие инвазивной карциномы в области первичной опухоли и аксиллярных лимфатических узлах	Частота ППО составила 68% BRCA1-ассоциированных РМЖ. В группе больных спорадическим РМЖ ППО достигнут в 37% ($p = 0.01$)
Bignon, 2017	53 больных РМЖ с трижды негативным фенотипом опухоли	46 BRCA1, 6 с BRCA2, 1 пациентка с 2 мутациями - BRCA1 и BRCA2	Отсутствие инвазивной карциномы в области первичной опухоли и аксиллярных лимфатических узлах	Частота ППО составила 38.3% больных с мутацией BRCA1
Nahnen, 2017	291 больная РМЖ	Мутации BRCA1 и BRCA2 были выявлены у 17.2% (50 из 291)	Отсутствие инвазивной карциномы в области первичной опухоли и аксиллярных лимфатических узлах	Частота ППО составила 66.7% (16 из 24 больных) наследственных РМЖ

1.5.2. Патоморфологический регресс РЯ после НАХТ

Несмотря на то, что в большинстве случаев РЯ обнаруживают на III или IV стадии заболевания, успехи хирургического и лекарственного лечения за последние 4 десятилетия значительно улучшили 5-летнюю и общую выживаемость женщин с этим диагнозом [19, 90, 130]. В развитых странах РЯ является ведущей гинекологической причиной смертности от злокачественных новообразований [200]. В настоящее время терапия эпителиальных опухолей яичников включает оптимальную циторедуктивную операцию, за которой следуют 6-8 циклов полихимиотерапии на основе платины и таксанов [149]. Циторедуктивная хирургия (“debulking”) была первоначально предложена Мейгсом в 1934 году [140]. Griffiths et al., 1975, показали, что продолжительность жизни зависит от максимального диаметра остаточной опухоли, оставшейся после циторедуктивной операции. Первичная циторедуктивная операция является одним из ключевых факторов улучшения результатов лечения больных РЯ [82].

Уменьшение объема опухоли и увеличение вероятности полной и потенциально менее травматичной хирургической резекции является основанием для проведения НАХТ. Это существенно при терапии серозного РЯ высокой степени злокачественности (high grade serous carcinoma, HGSOС), где уровень ответа на платиносодержащую химиотерапию первой линии составляет 75%. В то же время, серозные карциномы низкой степени злокачественности и муцинозный РЯ менее чувствительны к стандартной платиносодержащей НАХТ [13, 89, 192, 181, 196]. Schmeler et al., 2008, показали, что доля объективного ответа этих типов опухолей на платиносодержащую НАХТ составила всего 3,5% [181]. Основной проблемой НАХТ является риск прогрессирования и утрата возможности для пациентки пройти хирургическое лечение. Именно поэтому перспективен поиск потенциальных молекулярных предикторов чувствительности к платине (например, мутации BRCA1/2 или изменения в других генах гомологичной репарации ДНК) или резистентности (например, амплификация CCNE1). Таким образом, знание о молекулярном портрете опухоли способно оказывать влияние на последовательность лечебных мероприятий [54, 161, 197].

Полное хирургическое удаление всех макроскопических опухолевых масс является критическим прогностическим фактором [58]. Однако критерии «оптимальности» циторедукции неоднократно пересматривались и, к примеру, отличаются в редакции рекомендаций ESMO 2010 и ESMO 2013. Так, в соответствии с критериями ESMO 2010, объем циторедуктивной операции расценивался как оптимальный, если остаточный очаг/очаги не превышали 1 см. С 2013 года под оптимальной циторедукцией подразумевается полное макроскопическое отсутствие опухоли без признаков резидуальных изменений [124]. Изменение определения оптимальной циторедукции усложнило поиск остаточных опухолевых масс после неoadъювантной полихимиотерапии [93].

Изучение патоморфологических изменений опухоли в удалённых яичниках позволяет оценить эффективность НАХТ. Это основной объект исследования, т.к. биопсия первичной опухоли при РЯ проводится редко из-за особенностей структуры опухолевого поражения и высокого риска контаминации при проведении процедуры.

Несмотря на то, что определение патоморфологического ответа опухоли на НАХТ широко используется в клинической практике при РМЖ и раке толстой кишки, для РЯ пока нет общепринятых критериев оценки гистопатологического регресса опухоли после НАХТ [178]. Это связано с тем, что в повседневной клинической практике систематическое назначение НАХТ при РЯ стало использоваться не так давно. Тем не менее, прогностическая роль патоморфологического ответа РЯ на НАХТ изучалась в целом ряде исследований [32, 68, 121, 122, 123, 150, 165, 179].

Очевидно, что объектом оценки патоморфологических изменений после НАХТ являются сами опухолевые клетки и элементы микроокружения. Учитываться могут особенности размера опухолевой клетки, протяжённость распространения опухолевого процесса, соотношение жизнеспособных и погибших клеток опухоли. В микроокружении опухоли можно изучать фиброз, воспалительную инфильтрацию, наличие псаммомных телец, пенистых макрофагов, гемосидерина, гигантских многоядерных клеток и т.д. Sassen et al.,

2007, предложили оригинальный способ оценки патоморфологического регресса распространённого РЯ после НАХТ. Для этого в удалённой первичной опухоли полуколичественно (0/1+ отсутствуют или минимальное количество, 2+ небольшое количество (присутствует как минимум в 2 отдельных очагах опухоли), 3+ распространённое проявление критерия) подсчитывался размер остаточной опухоли в наибольшем измерении, фиброз, некроз, воспалительная инфильтрация, псаммомные тельца, пенистые макрофаги, гемосидерин, гигантские многоядерные клетки «инородных тел», гигантские опухолевые клетки. На следующем этапе подсчитывалось количество маркеров регресса с выраженным распространением в микропрепарате (3+). В целом, в группе РЯ после НАХТ количество регрессивных изменений было выше по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0.04$). Из 9 исследуемых морфологических параметров только распространение опухоли статистически достоверно ассоциировалось с общей продолжительностью жизни ($p = 0.006$). У больных РЯ с полным отсутствием опухолевых клеток в препарате или единичными разбросанными опухолевыми очагами менее 5 мм протяжённостью общая продолжительность жизни была выше по сравнению с больными, у которых размер резидуальной опухоли превышал 5 мм (45.6 против 27.3 мес., $p = 0.02$). При этом авторы отмечают, что субъективно избранный предел в 5 мм может быть изменён и требуется дальнейшее проспективное изучение взаимосвязи между продолжительностью жизни и размером резидуальной опухоли [179].

Существует много попыток анализировать патоморфологический регресс РЯ после НАХТ посредством комбинированных систем оценки степени ответа, которые могут в себя включать подсчёт видимых опухолевых клеток, фиброза, воспалительных изменений, макрофагальной инфильтрации и т.д. Из-за различий в методиках и субъективизма определения патоморфологического ответа разными исследователями были получены противоположные результаты относительно прогностической ценности комбинированных систем подсчёта [121, 122, 123, 150]. Le et al., 2006, в ретроспективном исследовании изучили роль некрозов опухоли после НАХТ, выявленных на момент циторедуктивной операции.

Оптимальная циторедукция была достигнута хирургом у 74% больных (критерий оптимальности: размер остаточной опухоли не превышает 2 см). Стандартное гистологическое исследование включало определение гистотипа опухоли, степень дифференцировки, выраженность некрозов в образцах: минимальное (менее 10%), умеренное (от 10 до 50%), выраженное (более 50%). Присутствие субъективизма в оценке процента некрозов побудило авторов упростить градацию до 2: отсутствие/минимальные некрозы и умеренные/выраженные некрозы. Отсутствие/минимальные некрозы опухоли статистически достоверно ассоциировались с временем первого прогрессирования заболевания после 3 циклов НАХТ ($p = 0.048$). У пациенток с размером резидуальной опухоли 2 см и более чаще наблюдалось прогрессирование РЯ после первичной терапии ($p = 0.005$). Статистически достоверных различий времени до прогрессирования у больных с размером резидуальной опухоли менее 1 см и размером от 1 до 2 см выявлено не было [121]. В аналогичном исследовании НАХТ, выполненном Muraji et al., 2013, установлено, что у больных РЯ с резидуальной опухолью размером ≥ 1 см наблюдается снижение общей продолжительности жизни ($p < 0.001$) [150].

Le et al., 2007, изучили взаимосвязь патологических изменений (некрозов опухоли, фиброза, макрофагальной инфильтрации, опухоль-индуцированного воспаления), возникающих в РЯ после НАХТ, с показателями выживаемости. В ходе работы была установлена целесообразность выделения 2 групп: с полным отсутствием патоморфологического ответа и ответом любой степени выраженности; продолжительность жизни больных составила 73.23 против 38.88 мес., соответственно ($p = 0.014$). При этом степень выраженности изученных морфологических маркеров не имела никакого значения. Степень выраженности каждого маркера измерялась по шкале от 0 до 2 (отсутствие/минимальная – менее 25%, умеренная 25-75%, выраженная более 75% от общей исследуемой площади образца общая комбинированная оценка ответа опухоли на лечение определялась суммой всех 4 маркеров и варьировала от 0 до 8). Существенно, что оптимальная

циторедукция (остаточная опухоль менее 2 см) достигнута лишь у 74% больных. [122].

Другой аспект патоморфологической диагностики РЯ после НАХТ – критерии ППО. Определение степени регресса опухоли может оказывать влияние на оптимизацию терапии в послеоперационном периоде, проведение поддерживающей терапии, участие в клинических испытаниях с целью улучшения долгосрочного результата. ППО (полное отсутствие опухолевых клеток в пределах всего образца первичной опухоли) является суррогатным маркером наилучшей общей выживаемости. Исследования патоморфологического ответа РМЖ показали, что ППО первичной опухоли и лимфатических узлов (достигается у 18-20% больных РМЖ после НАХТ) приводит к значительному улучшению результатов лечения [51]. FDA опубликовала заявление о готовности рассматривать результаты рандомизированных исследований, в которых для ускорения утверждения новых методов лечения используется ППО в качестве конечной точки [202]. Несмотря на то, что данное руководство было разработано для испытаний, проводимых при РМЖ, использование ППО в качестве конечной точки исследования оправдано и при иных локализациях [169]. При РЯ ППО первичной опухоли наблюдается значительно реже, чем при других типах опухолей (6-12%). Невысокая частота этого события объясняет объединение случаев ППО с группой случаев с почти полным отсутствием опухолевых клеток, общий размер скоплений которых не превышает нескольких миллиметров (у разных авторов от 2 до 5 мм).

Сведения о прогностической ценности ППО первичной опухоли в отношении РЯ после НАХТ противоречивы. В крупном исследовании Petrillo et al., 2014, (n = 322 больных) была показана ассоциация между ППО и большей продолжительностью времени до прогрессирования, а также и общей выживаемостью; в то же время, «выраженный» патоморфологический ответ не продемонстрировал аналогичных статистически значимых взаимосвязей. Медиана безрецидивной продолжительности жизни в группе больных РЯ с ППО составила 36 мес., 16 мес. - в группе пациенток РЯ с микропатоморфологическим

регрессом, 13 – с макропатоморфологическим ($p = 0.001$) регрессом; медиана общей выживаемости в этих группах достигла 72 мес., 38 мес., 29 мес., соответственно ($p = 0.018$) [165].

Естественное течение РЯ ассоциировано с вовлечением большого сальника в опухолевый процесс. Полная гибель опухолевых масс в большом сальнике под влиянием НАХТ приводит к понижению стадии заболевания при патоморфологическом стадировании операционного препарата. Поэтому тщательная документация полного регресса опухолевых масс сальника оказывается важнее результата оценки регресса первичной опухоли. Ferron et al., 2009, показали, что ППО с отсутствием жизнеспособных опухолевых клеток в хирургическом образце перитонеума встречается у 14% пациентов среди больных РЯ с полным макроскопическим отсутствием резидуальной опухоли (оценивался хирургом интраоперационно) и коррелирует с бессобытийной выживаемостью. В то же время взаимосвязи между степенью патоморфологического ответа (фиброз, некроз, митотический индекс) и показателями продолжительности жизни установлено не было [68]. Vohm et al., 2015, показали, что полный или почти полный патологический ответ метастазов большого сальника (CRS 3, chemotherapy response score) ассоциировался со значительным увеличением времени до прогрессирования (18 против 12 мес., $p < 0.001$) и снижением риска развития платинорезистентного рецидива (OR 0.08; $p < 0.001$) по сравнению с менее химиочувствительными опухолями со степенью регресса CRS1-2 [32].

Шкала, предложенная Vohm, была апробирована другими научными коллективами. Получены приемлемые результаты воспроизводимости определения CRS 3 (каппа Fleiss 0.656) независимыми патологами. Lee et al., 2017, показали, что у больных РЯ с CRS 1-2 в сальнике время до прогрессирования статистически достоверно короче, чем у больных РЯ с CRS 3: 15 против 19 месяцев, $p = 0.016$. Важно учитывать, что в исследовании хирургическая операция считалась оптимальной в случае полного макроскопического отсутствия опухоли. Кроме того, у 5.6% ($n = 4$) больных была выявлена наследственная мутация BRCA1, а у 1.4% ($n = 1$) - мутация в гене BRCA2 [125]. Coghlan et al., 2017, в

исследовании с аналогичным дизайном исследования получили сходные результаты. Время до прогрессирования было существенно больше в группе больных РЯ с CRS3 по сравнению с CRS1-2: 26 против 16 мес., $p = 0.032$. Ассоциаций между выраженностью патоморфологического регресса опухоли и общей продолжительностью жизни не наблюдалось (1/2 степень против 3 степени; $p = 0.291$) [47].

Таким образом, роль патолога в исследовании изменений РЯ после НАХТ состоит в оценке эффективности НАХТ, определении прогноза заболевания, а также дальнейшем поиске предикторов ответа опухоли на планируемую адъювантную ПХТ.

Результаты основных исследований роли патоморфологического регресса РЯ после НАХТ суммированы в табл. 6.

Таблица 6

Основные исследования, посвященные роли патоморфологического регресса РЯ после НАХТ

Исследования	Объект	Критерии оптимальной циторедукции	Доля опухолей с серозным гистотипом	Шкала оценки патоморфологического регресса	Клинические результаты
Sassen, 2007	Яичник (n = 84)	Менее 1 см (n = 100%)	n = 74 (88%)	Комбинированная шкала = фиброз, некроз, воспалительная инфильтрация, пенистые макрофаги, псаммомные тельца, гемосидерин, гигантские клетки инородных тел, гигантские опухолевые клетки, тип опухолевой инфильтрации (от 0 до 3 баллов)	У больных с отсутствием или резидуальной опухолью менее 5 мм медиана общей продолжительности выше, чем у остальных пациенток: 45.6 против 27.3 мес. ($p = 0.02$)
Le, 2006	Яичник (n = 101)	Менее 2 см (n = 74%)	n = 79 (78.2%)	Некроз	Отсутствие ассоциации между степенью некроза и продолжительностью жизни больных
Muraji,	Яичник	Отсутств	n = 87	Комбинированная	У больных с

Исследования	Объект	Критерии оптимальной циторедукции	Доля опухолей с серозным гистотипом	Шкала оценки патоморфологического регресса	Клинические результаты
2013	или метастазы (n = 124)	не резидуальной опухоли (n = 49.2%)	(70.2%)	шкала = степень распространённости опухолевых клеток, некроз, фиброз, воспалительная инфильтрация (от 0 до 3 баллов)	индексом регресса 2–3 отмечалось увеличение времени до прогрессирования заболевания (p = 0.024)
Le, 2007	Яичник (n = 62)	Менее 2 см (n = 74%)	n = 49 (79%)	Комбинированная шкала = некроз, фиброз, макрофагальная инфильтрация, опухоль-индуцированная воспалительная инфильтрация (от 0 до 2 баллов)	Общая выживаемость: 1-8 баллов против 0 баллов (73.23 против 38.88 месяцев; p = 0.014)
Le, 2007	Яичник, перитонеум (n = 66)	Менее 1 см (n = 55%)	n = 58 (87.8%)	Цитоплазматическая вакуолизация, пенистые макрофаги, фиброз, гигантские клетки инородных тел (от 0 до 3 баллов)	Медиана выживаемости у больных с положительным регрессом опухоли в сальнике составила 84.5 мес. против 31.2 мес. у больных с отсутствием ответа, p = 0.005
Petrillo, 2014	Яичник (n = 322)	Нет данных	n = 264 (82%)	ППО = отсутствие опухоли во всех образцах микроПО = микроскопические очаги ≤ 3 мм. макроПО = макроскопически видимая опухоль	Медиана безрецидивной выживаемости составила 36 мес. в ППО, 16 в микроПО, и 13 в макроПО (P = 0.001). Медиана общей выживаемости составила 72 мес. в ППО, 38 в микроПО, 29 в макроПО (P = 0.018).

Исследования	Объект	Критерии оптимальной циторедукции	Доля опухолей с серозным гистотипом	Шкала оценки патоморфологического регресса	Клинические результаты
Ferron, 2009	Яичник (n = 58)	Полная макроскопическая резекция (100%)	n = 42 (72%)	Группа 1: отсутствие опухоли во всех образцах (яичник, брюшина) Группа 2: остаточная опухоль с явными гистологическими изменениями Группа 3: наличие как минимум 1 очага опухоли без признаков регресса	3 летняя бессобытийная выживаемость в группах 1, 2 и 3: 63%, 12% и 19% соответственно (p = 0.02)
Bohm, 2015	Яичник, маточная труба, перитонеум (n = 71)	Полная макроскопическая резекция (48%)	n = 71 (100%)	Группа 1: отсутствие или минимальный опухолевый ответ. Группа 2: заметный опухолевый ответ среди видимой жизнеспособной опухоли. Группа 3: полный или почти полный ответ опухоли (резидуальная опухоль до 2 мм максимум)	У больных с регрессом опухоли в сальнике 1+2 группы безрецидивная выживаемость меньше, чем у больных с регрессом 3 группы: 12 против 18 мес.; p <0.001
Coghlan, 2017	Яичник, маточная труба, перитонеум (n = 71)	Полная макроскопическая резекция (54.9%)	n = 71 (100%)	Шкала по Bohm et al., 2015	У больных с регрессом опухоли в сальнике 1 группы медиана безрецидивной выживаемости меньше по сравнению с 3 группой (median survival, 11 против 26 мес.), p = 0.004

Глава 2. Материалы и методы исследований

Исследуемая группа пациенток раком молочной железы

Для проведения диссертационной работы были использованы данные пациенток, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова с 2000 по 2010 год. Из 7028 женщин, проходивших лечение в указанный период, 1688 получали неoadъювантную терапию. Схемы проведённой лекарственной терапии приведены в табл. 7. Для увеличения шансов обнаружения наследственных мутаций в исследование включались больные в возрасте до 50 лет. 788 больных соответствовали вышеперечисленным критериям, и у 462 из них материал опухолевой ткани (парафиновые блоки) был доступен в патологоанатомическом архиве ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (схема 1).

Таблица 7

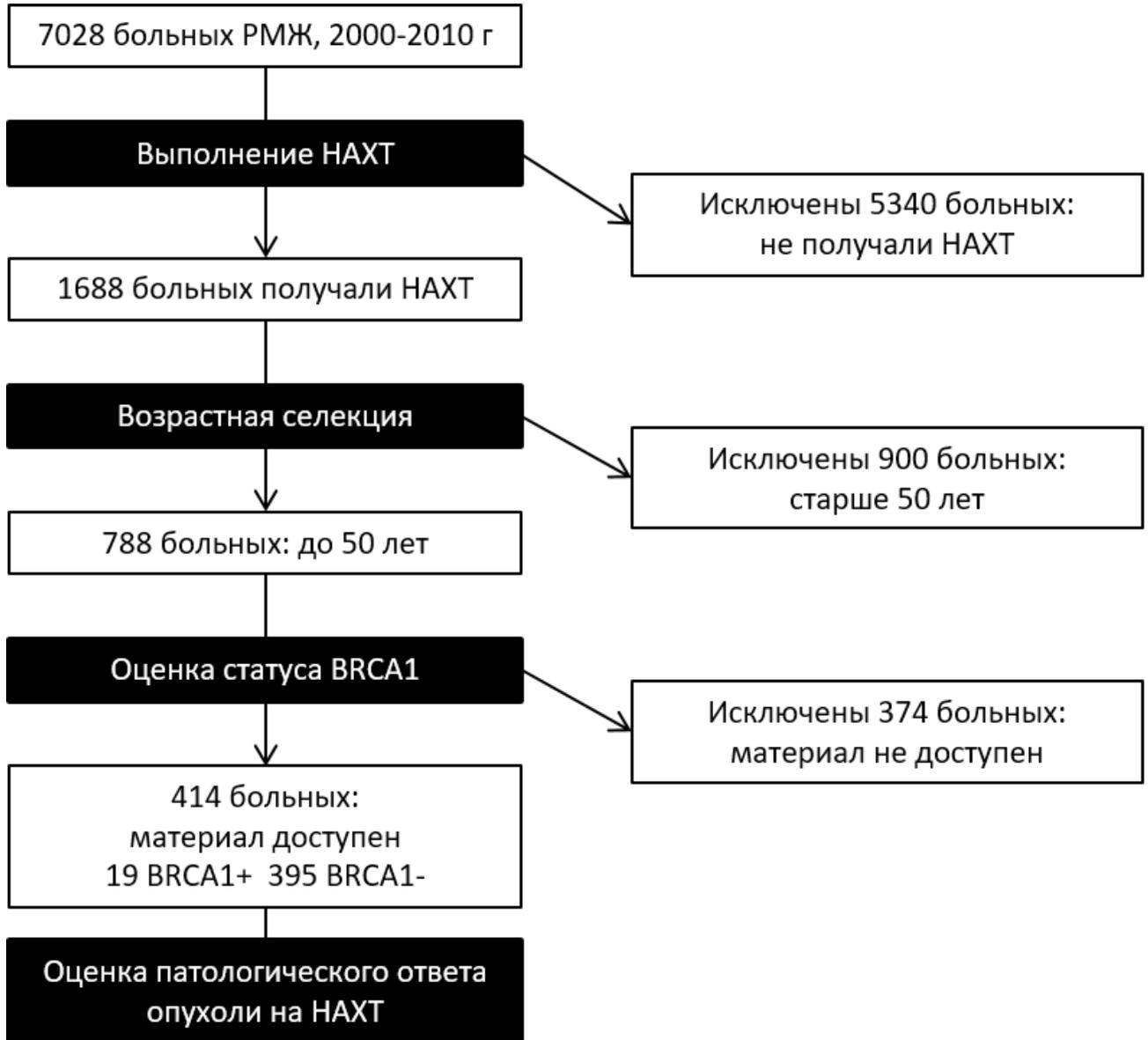
Режимы неoadъювантной химиотерапии РМЖ

Схема ХТ	Описание режима
1	2
ФАС	5-фторурацил 500 мг/м ² в\в., в день 1 Доксорубин 50 мг/м ² в\в., в день 1 Циклофосфамид 500 мг/м ² в\в., в день 1; 1 раз в 21 день
ФЕС	5-фторурацил 500 мг/м ² в\в., в день 1 Эпирубин 100 мг/м ² в\в., в день 1 Циклофосфамид 500 мг/м ² в\в., в день 1; 1 раз в 21 день
АС	Доксорубин 60 мг/м ² в\в., в день 1 Циклофосфамид 600 мг/м ² в\в., в день 1; 1 раз в 21 день
ЕС	Эпирубин 75 мг/м ² в\в., в день 1 Циклофосфамид 600 мг/м ² в\в., в день 1; 1 раз в 21 день

Схема ХТ	Описание режима
САМФ	Циклофосфамид 600 мг/м ² в/в в день 1, 8 Метотрексат 40 мг/м ² в/в., день 1, 8 Доксорубин 50 мг/м ² в\в., в день 1 5-фторурацил 500 мг/м ² в\в., в день 1; 1 раз в 28 дней
ТАС	Доксорубин 50 мг/м ² в\в., в день 1 Циклофосфамид 500 мг/м ² в/в., в день 1 Доцетаксел 75 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
ТЕС	Эпирубин 75 мг/м ² в\в., в день 1 Циклофосфамид 500 мг/м ² в/в., в день 1 Доцетаксел 75 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
ЕТ	Эпирубин 100 мг/м ² в\в., в день 1 Доцетаксел 75 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
АТ	Доксорубин 50 мг/м ² в\в., в день 1 Доцетаксел 75 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день или Доксорубин 50 мг/м ² в\в., в день 1 Паклитаксел 175 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
ТС	Циклофосфамид 600 мг/м ² в/в., в день 1 Доцетаксел 75 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
Винорельбин + АС	Винорельбин 25 мг/м ² в/в., в день 1.8 Доксорубин 50 мг/м ² в\в., в день 1 Циклофосфамид 500 мг/м ² в/в., в день 1 1 раз в 21 день
Винорельбин + паклитаксел	Винорельбин 30 мг/м ² в/в., в день 1.8 Паклитаксел 175 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
Винорельбин	Винорельбин 25 мг/м ² в/в., в день 1.8

Схема ХТ	Описание режима
н + ТС	Циклофосфамид 500 мг/м ² в/в., в день 1 Доцетаксел 75 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 28 дней
ТСьР	Карбоплатин АУС 6 в/в., в день 1 Паклитаксел 175 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
Паклитаксел	Паклитаксел 175 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день или Паклитаксел 80 мг/м ² в день 1, еженедельно
Доцетаксел	Доцетаксел 100 мг/м ² в/в., день 1; 1 раз в 21 день
СМФ	Циклофосфамид 600 мг/м ² в/в., в день 1, 8 Метотрексат 40 мг/м ² в/в., в день 1, 8 5-фторурацил 600 мг/м ² в/в., в день 1, 8; 1 раз в 28 дней
Винорельбин + капецитабин	Капецитабин 1000 мг/м ² перорально, дважды в день, день 1-14 Винорельбин 25 мг/м ² в/в., день 1, 8; 1 раз в 21 день
Винорельбин + 5- фторурацил	Фторурацил 500 мг/м ² в/в., день 1 Винорельбин 25 мг/м ² в/в., день 1, 8; 1 раз в 21 день
Капецитабин	Капецитабин 1250 мг/м ² перорально, дважды в день, день 1-14

Дизайн исследования больных раком молочной железы



Исследуемая группа больных раком яичника

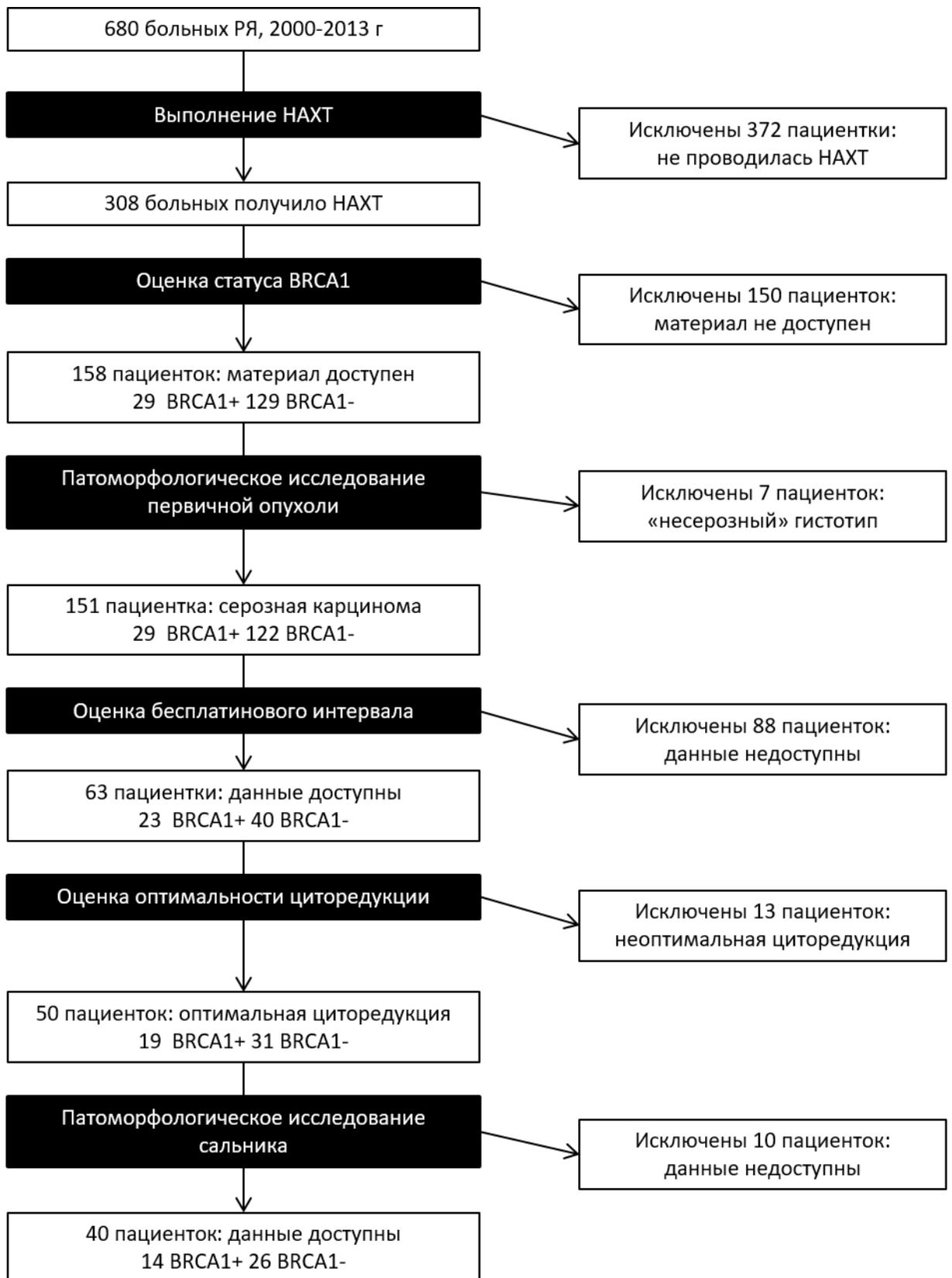
Для проведения диссертационной работы были использованы данные пациенток, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова с 2000 по 2013 год. Использовались следующие критерии включения: патоморфологически подтверждённый рак яичника, проведение неoadъювантной платиносодержащей химиотерапии, пангистерэктомии (табл. 8). Из 680 пациенток, проходивших лечение в указанный период, 308 получали неoadъювантную терапию. У 158

больных материал опухолевой ткани (парафиновые блоки) был доступен в патологоанатомическом архиве ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России.

Всем больным была проведена хирургическая операция - срединная лапаротомия, включающая, как минимум, гистерэктомию и сальпингоофорэктомию. Подтверждение морфологического диагноза выполнено в каждом случае двумя патологами. Хирургическую стадию определяли по FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) после анализа анамнеза, данных, полученных в ходе операции, а также патоморфологического исследования.

Микроскопическое исследование проводилось двумя независимыми наблюдателями. Образцы тканей были зафиксированы в формалине, окрашены гематоксилином и эозином в соответствии со стандартной процедурой. Оценка резидуальной опухоли проводилась по критериям Vöhm et al., 2015. При несовпадении результатов оценки резидуальной опухоли двумя патоморфологами, для достижения согласия проводилось совместное обсуждение спорных ситуаций. В случаях, когда стандартное гистологическое исследование не выявляло резидуальную опухоль, проводилось тотальное исследование макропрепарата. Гистологическое исследование проводилось «вслепую», без информации о клинических данных (группа контроля или исследуемая группа) (схема 2).

Дизайн исследования больных раком яичника



Режимы неoadьювантной химиотерапии РЯ

Схема ХТ	Описание режима
СР	Циклофосфамид 1000 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день Цисплатин 50 мг/м ² в/в., в день 1
САР	Циклофосфамид 500 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день Доксорубицин 60 мг/м ² в/в., в день 1 Цисплатин 50 мг/м ² в/в., в день 1
ТСьР	Карбоплатин АUC 6 в/в., в день 1 Паклитаксел 175 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
СМФ	Циклофосфамид 1000 мг/м ² в/в., в день 1, 8 Метотрексат 60 мг/м ² в/в., в день 1, 8 5-фторурацил 10 мг/м ² в/в., в день 1, 8; 1 раз в 28 дней
Р	Цисплатин 100 мг/м ² в/в., в день 1

Исследуемая группа пациентов с раком желудка

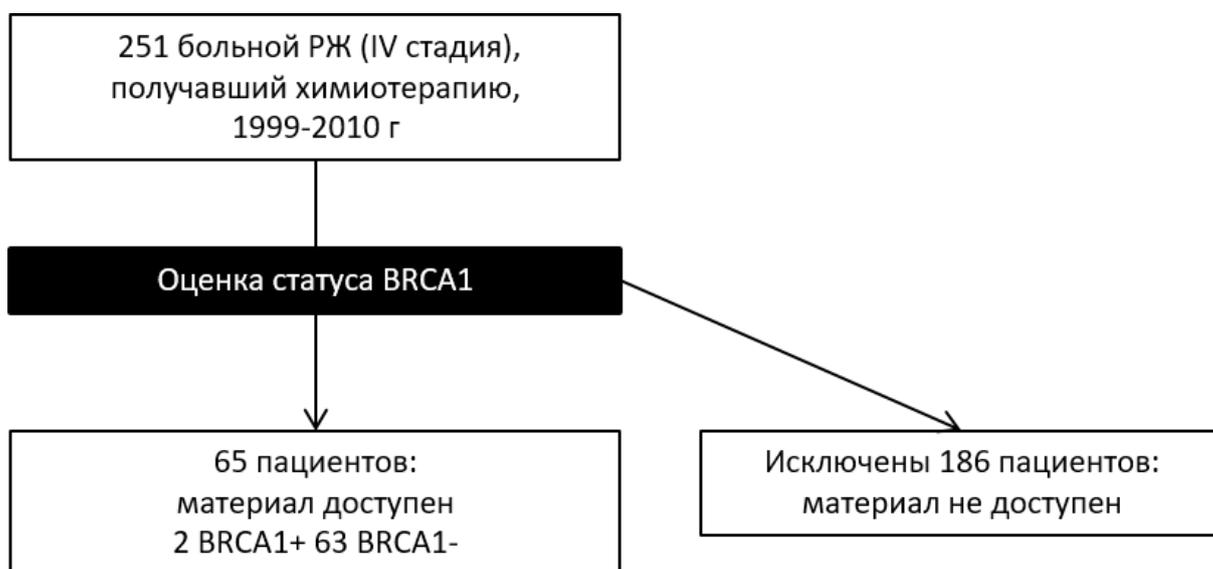
Проведен анализ архива медицинской документации (историй болезни и амбулаторных карт) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России за период с 1999 по 2010 гг. Найдена информация о 251 больных, получавших первую линию химиотерапии по поводу рака желудка IV стадии в стационаре за указанный период.

Во всех случаях было выполнено гистологическое подтверждение диагноза. Исследованы гистологические препараты, полученные в ходе операции, эндоскопической биопсии первичной опухоли или трепанбиопсии метастазов в периферические лимфатические узлы и печени.

Анализ наследственных мутаций BRCA1 проводился среди больных, которые получали химиотерапию стандартными режимами – дублетами препаратов платины и фторпиримидинов и триплетами с включением антрациклинов. В патологоанатомическом архиве ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России образцы опухолевой ткани (парафиновые блоки) были доступны от 65 таких больных (схема 3).

Схема 3

Дизайн исследования больных раком желудка



Макроскопическое исследование препаратов молочной железы

Для правильного определения квадрантов молочной железы точно ориентировали макропрепарат. При наличии в блоке тканей аксиллярной клетчатки, описания хирургом расположения опухоли, односторонней ориентации железы эта процедура не вызывала сложностей. После того как образец был правильно ориентирован, в угол верхнего внешнего квадранта вкалывалась маркерная метка, что позволяло быстро определять топографию образца при дополнительном повторном исследовании. Производилось измерение макропрепарата в 3 измерениях. Описывалась кожа, сосок и места повреждения кожи от биопсий (при наличии). «Хвост» аксиллярной клетчатки был отсечён для

последующего осмотра. Затем производилась пальпация образца с выявлением всех уплотнений любой интенсивности. Осматривались и рассекались глубокие отделы макропрепарата для оценки фрагментов скелетной мышцы. Затем последовательно все поверхности, за исключением кожи и хвоста аксиллярной клетчатки, окрашивались маркерной краской. После чего макропрепарат молочной железы укладывался на рабочую поверхность стола кожей вниз и последовательно рассекался. Сосок молочной железы использовался для центровки образца, после чего двумя длинными перпендикулярными разрезами железа рассекалась на 4 квадранта. Каждый квадрант дополнительно последовательно разрезался. Эти разрезы не разделяли на части молочную железу, а нерассечённая кожа сохраняла форму образца в виде «книжки». Данная последовательность действий не только помогла правильно ориентировать препарат в соответствии с клиническими данными, но и позволила точно документировать, в каком квадранте расположен патологический очаг. Макрописание включало: размер макропрепарата в трёх измерениях; размер лоскута кожи; наличие или отсутствие следа от биопсии; наличие любых втяжений или изъязвления соска или окружающей кожи; наличие или отсутствие поперечнополосатых мышц на нижней поверхности макропрепарата; размер и внешний вид опухоли, включая квадрант, в котором она локализована; расстояние от опухоли до передних и глубоких краёв резекции. Ложе опухоли исследовалось тотально. Также для гистологического исследования отсекали фрагмент соска и кожи из области первичной биопсии. На заключительном этапе проводился поиск всех лимфатических узлов аксиллярной клетчатки. При работе с подмышечными лимфатическими узлами идентифицировали и оценивали каждый лимфоузел, и особенно тщательно исследовались макроскопически неизменённые лимфоузлы. Макроскопически изменённые лимфатические узлы брали для микроскопического исследования неполностью. Максимальный размер опухоли в макроскопически изменённом лимфатическом узле указывался в макрописании препарата.

Макроскопическое исследование препаратов яичника

Поражённый яичник, удалённый одним комплексом с маткой, маточной трубой, вторыми придатками, исследовался следующим образом. Оценивали размеры яичника в 3 измерениях. Осматривали наружную поверхность на предмет спаек, узелков, кист. Рассекали яичник на 2 равные половины по наибольшему длиннику. Описывали на разрезе поверхность среза, любые кисты, узелки с обозначением локализации: кортикальная, медуллярная и т.п. Оценивали внешний вид яичника в целом (размер нормального яичника женщины в репродуктивном периоде – около 4 см). В макроскопически неизменённом яичнике совершали разрезы через каждый 1 см. Измеряли все кисты, оценивали характер внутренней стенки кист, исследовали наружную стенку на наличие разрывов. Кисты рассекались в контейнере. Вначале совершали небольшой надрез, открывающий возможность для оттока жидкости. Описывали цвет, консистенцию жидкости кисты (серозная, муцинозная, геморрагическая). Для чёткой ориентации помечали яичник маркерной краской. Разрезали стенку кист ножницами для полной оценки их внутренней поверхности кист, измеряли её толщину. Тщательно осматривали области с зернистыми и папиллярными структурами на поверхности кисты. Крупные, однокамерные кисты с гладкой внутренней поверхностью могли нарезать полосками и укладывались в кассеты свёрнутыми для достижения максимальной эффективности оценки внутренней стенки кист. Кроме того, отмечали участки солидного строения. Если присутствовали участки солидного и кистозного строения, приблизительно указывали процент каждого компонента. Отмечали любые зоны кровоизлияний и некрозов. Обнаруживали остатки резидуальной паренхимы яичника. Фиксировали препарат формалином, предварительно разрезав на сегменты через каждый сантиметр. Для оценки патоморфологического регресса ткань яичника исследовалась полностью (включая зоны кровоизлияний, некрозов). С особенной тщательностью изучались участки тканей по типу «пчелиных сот». Размер большого сальника указывали в 3 измерениях. Серийно рассекали препарат через

каждые 0,5 см, тщательно исследуя наличие опухолевых узелков. Измеряли размер опухолевого очага. Пальпировали жировую клетчатку с целью выявления плотных участков или мелких просовидных узелков. При макроскопически видимой опухоли сальника брали 3 репрезентативных участка с каждого уплотнения. Если опухоль макроскопически в сальнике не определялась, то брали участки из зон повышенной плотности (не менее 6-10 фрагментов).

Рутинное гистологическое исследование

Исследование проводилось с использованием микроскопа Leica DM 2000, микросъёмка проводилась с помощью цифровой фотокамеры Leica DFC 320. Обработку цифровых изображений проводили на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ «Adobe Photoshop CS».

Определение гистологического типа опухоли молочной железы

Инвазивный рак неспецифического типа (дуктальный) отличается образованием гнёзд, групп, трабекул, но в части образований присутствует солидный компонент со слабо выраженной стромой. В небольшой доле опухолей выявлялись отчётливые тубулярные структуры с центральным просветом. Строение опухолевых клетки может несколько варьировать. Эозинофильный ободок цитоплазмы бывает широким, а в крупных ядрах с выраженным полиморфизмом могут наблюдаться ядрышки. В одном поле зрения количество митозов варьирует от 0 до 15. Вблизи фокусов инвазивного рака часто встречались очаги дуктальной *sa in situ*. Выявлялись очаги вторичных изменений опухоли (некроз и гиалиноз). Диагноз рака неспецифического типа (дуктального) мог быть поставлен, если более 50% опухоли имело описанное строение. Если рак неспецифического типа занимал 10-49%, а остальная часть опухоли могла быть отнесена к специфическому подтипу, тогда опухоль считалась смешанной.

Инвазивный дольковый рак состоит из отдельных клеток, цепочек или кластеров клеток, распределённых в фиброзной строме. Часто сочетается с дольковой карциномой *in situ*. Выделяют несколько типов дольковой карциномы: классический солидный, альвеолярный, плеоморфный, тубулярно-дольковый, смешанный. Классический дольковый рак характеризуется пролиферацией маленьких клеток, расположенных по отдельности в фиброзной строме или формирующих длинные цепочки. Цепочки клеток могут располагаться циркулярно вокруг неизменённых протоков, создавая структуры, напоминающие мишень. Клетки имеют круглые или овальные мелкие ядра с тонким ободком цитоплазмы, в которых иногда присутствует вакуоль. Митозы наблюдаются в умеренном количестве.

Муцинозный рак – опухоль, представленная «озерами» слизи, в которых наблюдаются скопления опухолевых клеток разного размера. «Озера» слизи разделяются между собой фиброзными прослойками, с большим количеством капилляров. Более 90% объёма опухоли обычно представлено слизистым компонентом.

Медуллярный рак – карцинома, диагностические критерии которой включают солидный тип роста (более 75% опухоли), чётко отграниченный край опухоли, диффузную лимфоплазмочитарную инфильтрацию стромы. Опухолевые клетки округлой формы с широким ободком цитоплазмы, полиморфными везикулярными ядрами, в которых присутствует несколько ядрышек. В опухоли присутствуют гигантские многоядерные клетки, характерно большое количество митозов.

Тубулярный рак – высокодифференцированная карцинома с благоприятным прогнозом. Более 90% опухоли представлено тубулярными структурами округлой и угловатой формы, выстланными однорядным цилиндрическим эпителием с минимальным ядерным полиморфизмом и низкой митотической активностью.

Секреторный рак – редкая опухоль низкой степени злокачественности, связанная с транслокацией $t(12;15)$, формирует солидные микрокистозные и тубулярные структуры.

Определение степени дифференцировки опухоли молочной железы

Выделяли 3 степени злокачественности инвазивного рака молочной железы: 1 – низкая (высокодифференцированный, G1), 2 – умеренная (умереннодифференцированный, G2), 3 – высокая (низкодифференцированный, G3). Оценка степени злокачественности учитывает способность опухоли к структурообразованию (формированию железистых и тубулярных структур), ядерный полиморфизм и митотическую активность (табл. 9) [1].

Таблица 9

Гистологическая градация рака молочной железы

Критерий	Оценка
Структурообразование	
Железистые/тубулярные структуры занимают более 75% площади опухоли	1 балл
Железистые/тубулярные структуры занимают 10 - 75% площади опухоли	2 балла
Железистые/тубулярные структуры занимают менее 10% площади опухоли	3 балла
Ядерный полиморфизм	
Мономорфные мелкие ядра с чётким контуром, равномерным хроматином, сходные с ядрами нормальных эпителиальных клеток	1 балл
Укрупнённые умеренно полиморфные везикулярные ядра с заметными ядрышками	2 балла
Полиморфные, переменные по размеру везикулярные ядра с заметными ядрышками, нередко причудливой формы	3 балла
Митозы (диаметр поля зрения 0.55 мм)	
≤ 8	1 балл

Критерий	Оценка
9-17	2 балла
≥ 18	3 балла
G1	3-5 баллов
G2	6-7 баллов
G3	8-9 баллов

Оценка полного патоморфологического регресса опухоли молочной железы

Система RCB (residual cancer burden) – математическая модель для оценки остаточной опухолевой нагрузки по формуле:

$$RCB = 1.4(f_{inv}d_{prim})^{0.17} + [4(1-0.75^{LN})d]^{0.1},$$

$$d_{prim} = \sqrt{d_1d_2},$$

где d_1 , d_2 – микроскопические размеры ложа опухоли,

$f_{inv} = (1-(\%CIS/100)) \times (\%CA/100)$ – выраженность инвазивного компонента, рассчитанная на основании процента carcinoma in situ (CIS) и инвазивного рака (CA) в опухоли,

LN – число лимфатических узлов с метастазами, d_{met} – наибольший диаметр метастаза в лимфатическом узле.

Результатом вычислений является индекс остаточной опухоли (остаточная опухолевая нагрузка) ранжированный от 0 до 3: RCB0 (pCR, полный патоморфологический ответ) – значение индекса 0; RCB1 (минимальная остаточная опухоль) – менее 1,36, низкий риск прогрессирования заболевания; RCB2 (умеренная остаточная опухоль) – 1,36-3,28, промежуточный риск прогрессирования заболевания; RCB3 (выраженная остаточная опухоль) более 3,28, высокий риск прогрессирования заболевания. Для расчёта критерия RCB использовался онлайн-калькулятор, доступный по интернет-ресурсу www.mdanderson.org/breastcancer_RCB. Полный морфологический регресс

означает отсутствие опухоли и её элементов в молочной железе и лимфатических узлах [2].

Для анализа результатов исследования все пациентки были разделены на две группы: 1) с нулевой остаточной опухолевой нагрузкой (pCR, полный патоморфологический ответ, RCB0) (рис. 6-7), 2) с ненулевой остаточной опухолевой нагрузкой (RCB1, RCB2, RCB3) (рис. 8-9).

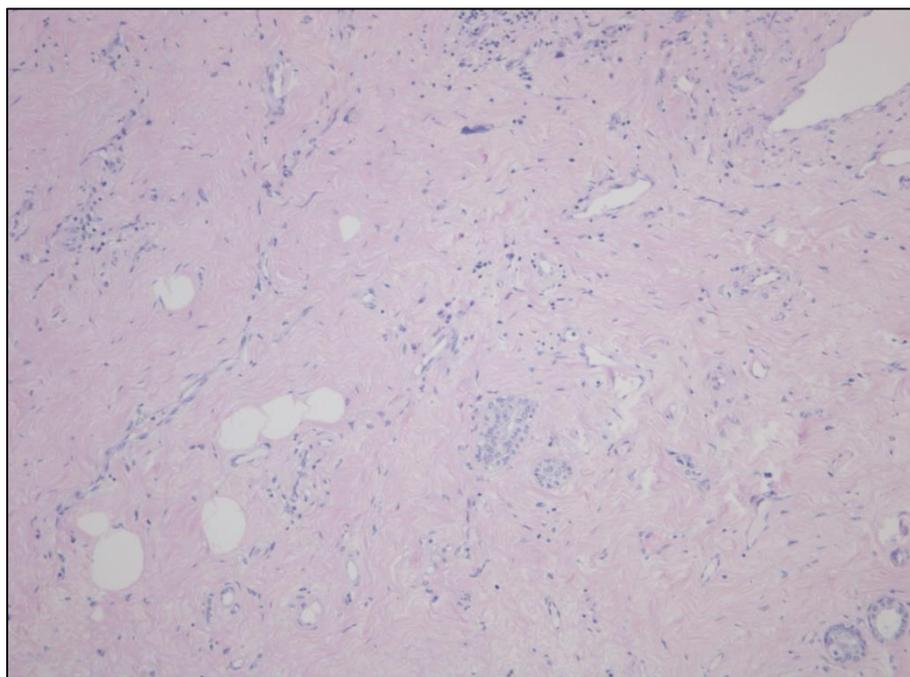


Рис. 6. Инвазивный неспецифический рак молочной железы, NST (дуктальный), с нулевой остаточной опухолевой нагрузкой: фиброз ложа опухоли, опухолевые клетки отсутствуют, окр. гематоксилином и эозином, x100

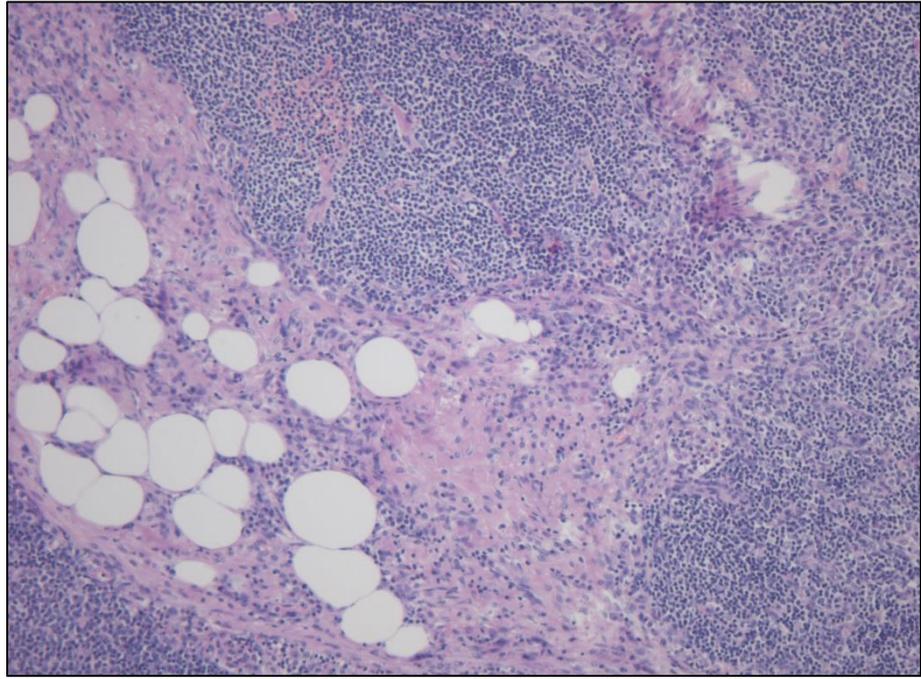


Рис. 7. Инвазивный неспецифический рак молочной железы, NST (дуктальный), с нулевой остаточной опухолевой нагрузкой: очаговый фиброз лимфатического узла, опухолевые клетки отсутствуют, окр. гематоксилином и эозином, x100

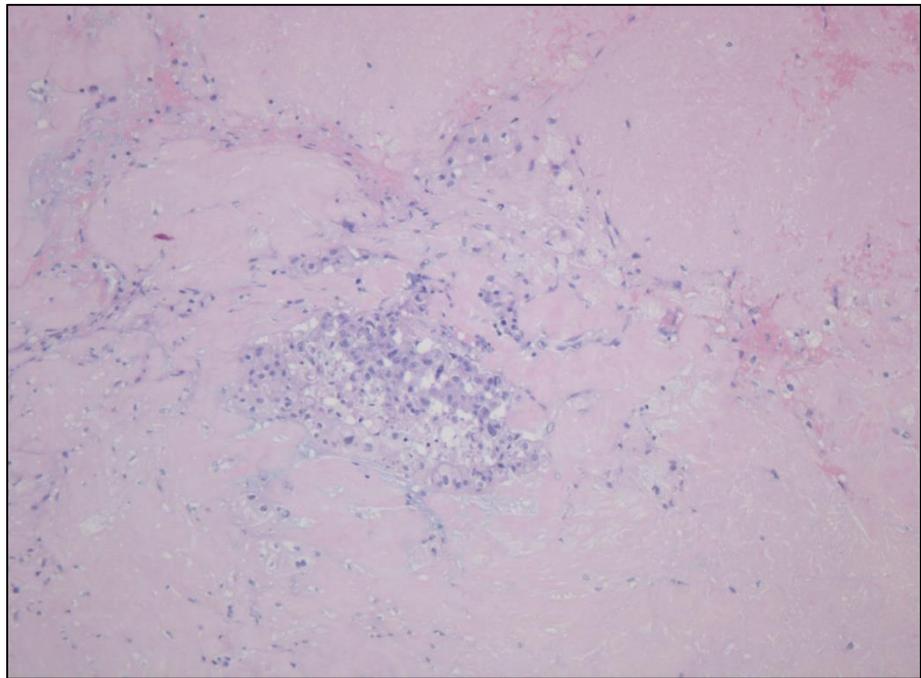


Рис. 8. Инвазивный неспецифический рак молочной железы, NST (дуктальный), с ненулевой остаточной опухолевой нагрузкой: фиброз ложа опухоли с комплексами опухолевых клеток, окр. гематоксилином и эозином, x100

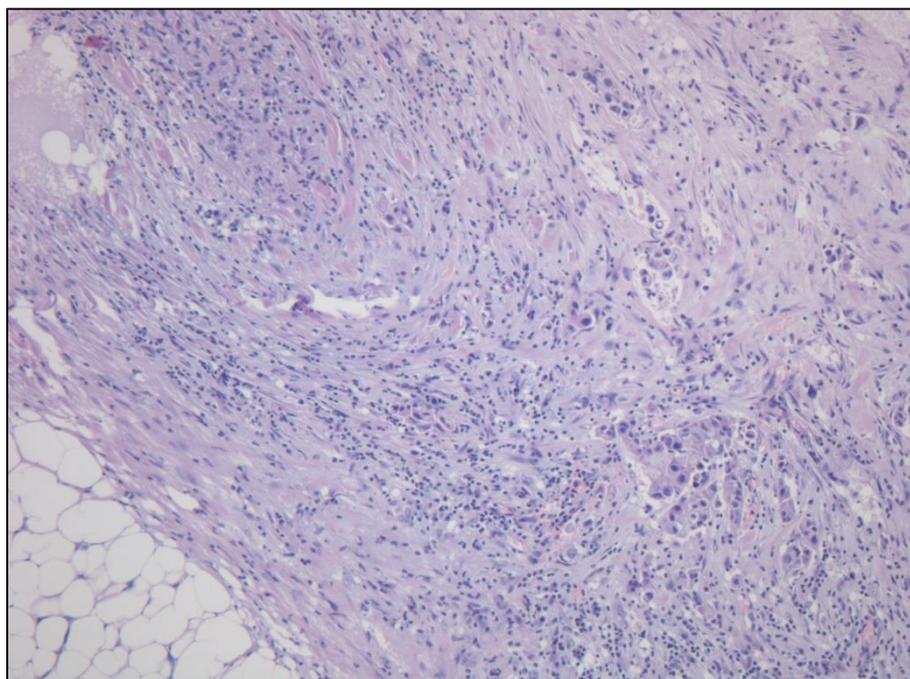


Рис. 9. Инвазивный неспецифический рак молочной железы, NST (дуктальный), с ненулевой остаточной опухолевой нагрузкой: фиброз лимфатического узла с комплексами опухолевых клеток, окр. гематоксилином и эозином, x100

Определение гистологического типа опухоли яичника

Серозная карцинома высокой степени злокачественности характеризуется сочетанием папиллярных и солидных эпителиальных структур с выраженной цитологической атипией. Часто папиллярные структуры образуют мостики, сливались и формируя щелевидные пространства. Кроме того, в опухоли встречаются железистые и крибриформные участки, с выраженной ядерной атипией, многоядерные гигантские опухолевые клетки. Также характерно большое количество митозов, включая патологические, поля некрозов, псаммомные тельца, внутриопухолевая лимфоваскулярная инвазия [111].

Оценка патоморфологического регресса опухоли яичника и метастазов большого сальника

Для оценки гистопатологического ответа опухоли использовались срезы с максимальным объёмом опухолевых структур и/или зонами гистопатологического ответа опухоли в сальнике и яичнике. Критерии оценки ответа опухоли на химиотерапию приведены в табл. 10, а примеры характерных морфологических изменений - на рис. 10-16.

Таблица 10

Система оценки ответа опухоли на химиотерапию [32]

1 степень	Отсутствие или минимальный ответ. Преимущественно жизнеспособная опухоль с отсутствием или минимальными фиброзными, воспалительными изменениями, ограниченными небольшими очагами; случаи, в которых сложно различить регресс и опухоль-ассоциированную десмоплазию и воспалительную инфильтрацию
2 степень	Существенный ответ среди жизнеспособной чётко определяемой опухоли. Опухоль равномерно распределена, с многоочаговыми или диффузными регресс-ассоциированным фиброзно-воспалительными изменениями с жизнеспособной опухолью, образующей поля, тяжи, узлы, либо выраженными регресс-ассоциированными фиброзно-воспалительными изменениями с мультифокальной резидуальной опухолью, которая легко выявляется
3 степень	Полный или почти полный ответ с отсутствием резидуальной опухоли или небольшими неравномерно разбросанными опухолевыми очагами, представленными отдельными клетками, группами или скоплениями до 2 мм в наибольшем измерении. Выраженные регресс-ассоциированные фиброзно-воспалительные изменения или, в редких случаях, отсутствие или минимальная резидуальная опухоль с полным отсутствием воспалительного ответа. Рекомендуется указывать наличие или отсутствие резидуальной опухоли

Проводилось сравнение полученных результатов в группах BRCA1-положительных и спорадических образцов опухоли.

Для оценки эффективности лечения длительность платинового интервала определялась в соответствии с рекомендациями Российского общества

клинической онкологии (период от даты последнего введения производного платины до даты прогрессирования).

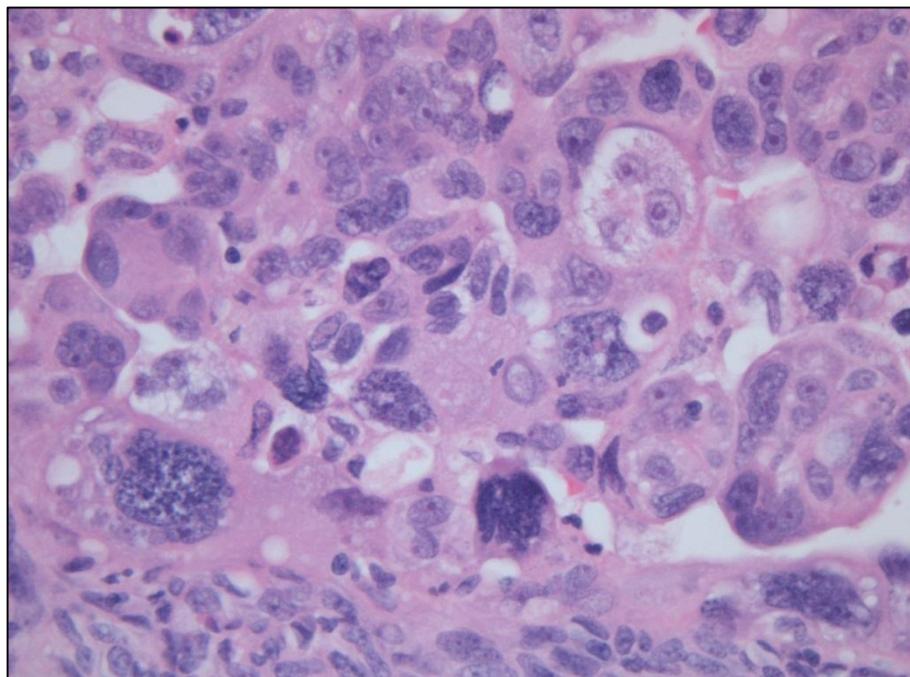


Рис. 10. BRCA1-ассоциированная серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности после НАХТ, гигантские опухолевые клетки; окр. гематоксилином и эозином, х400

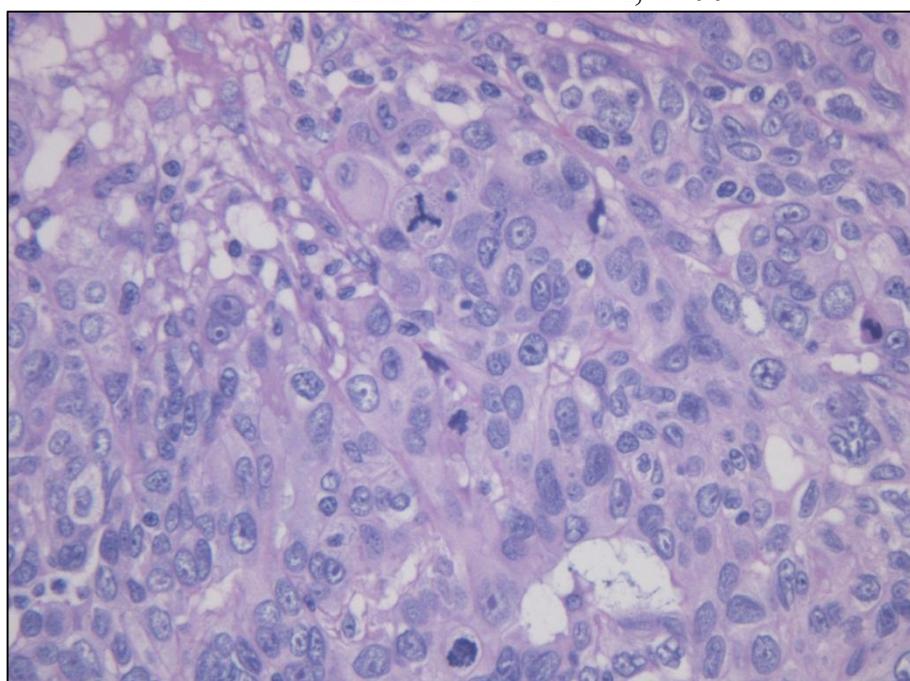


Рис. 11. BRCA1-ассоциированная серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности после НАХТ, патологические митозы в опухолевых клетках; окр. гематоксилином и эозином, х400

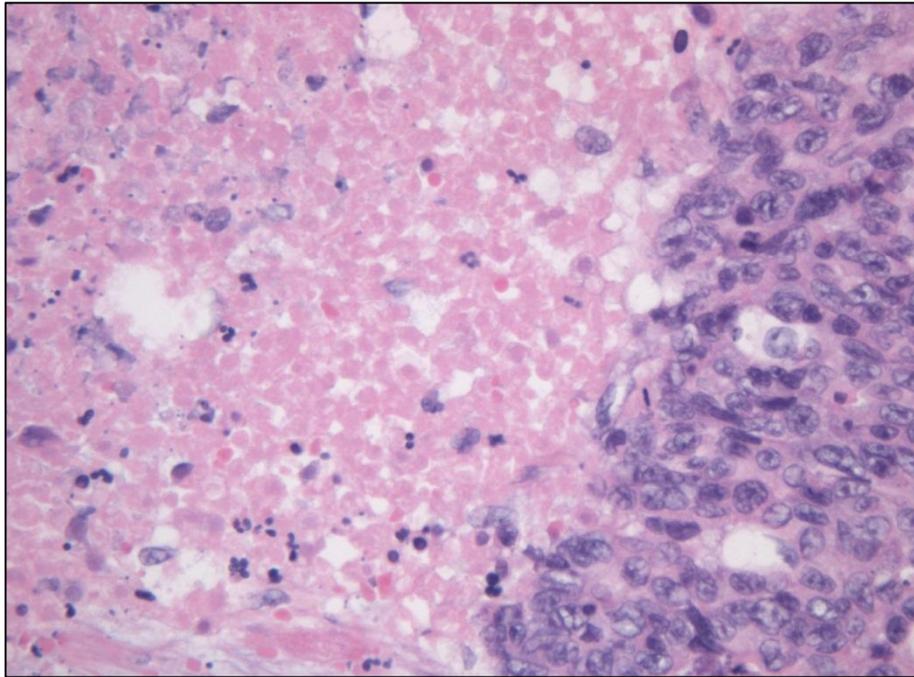


Рис. 12. BRCA1-ассоциированная серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности после НАХТ, очаги некрозов; окр. гематоксилином и эозином, x400

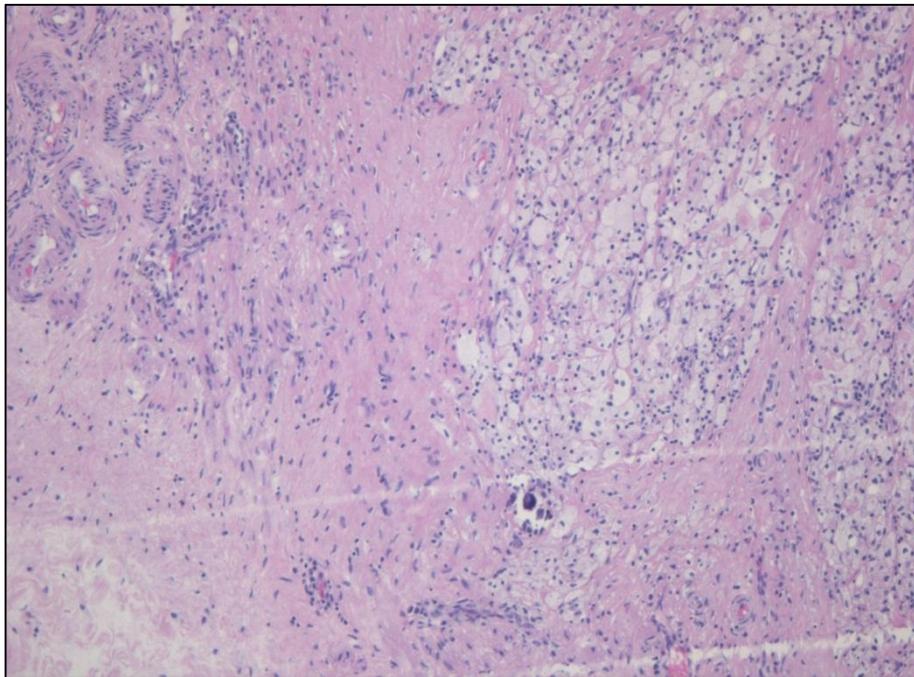


Рис. 13. BRCA1-ассоциированная серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности после НАХТ, скопления пенстых макрофагов; окр. гематоксилином и эозином, x100

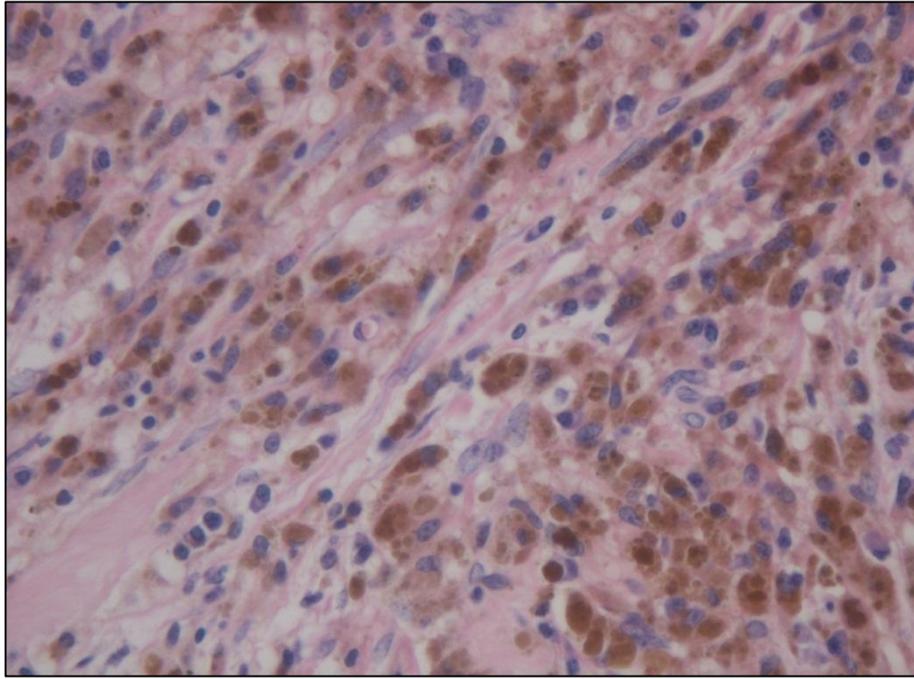


Рис. 14. BRCA1-ассоциированная серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности после НАХТ, скопления гемосидерофагов; окр. гематоксилином и эозином, x400

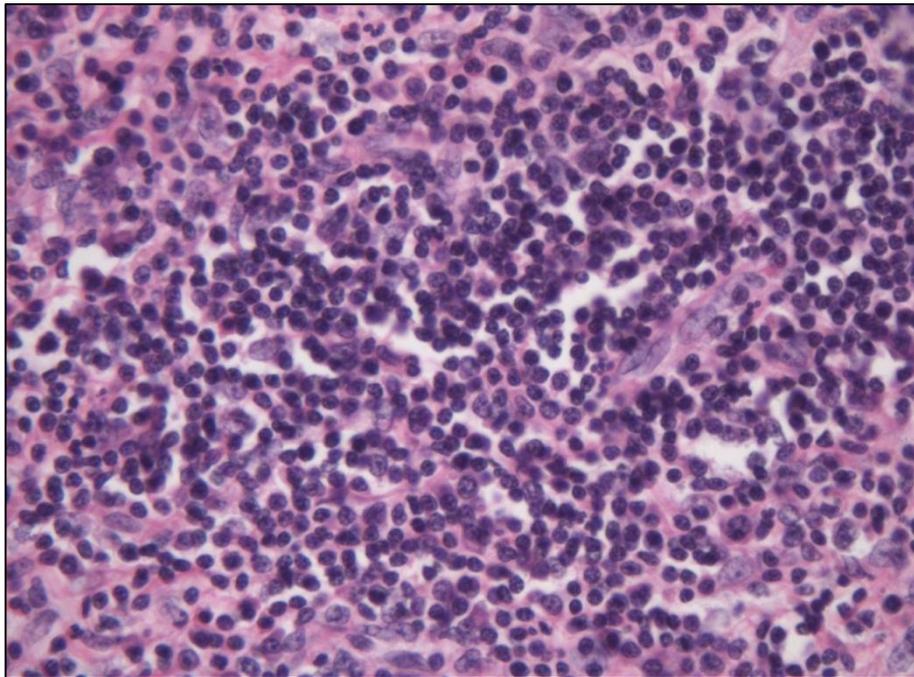


Рис. 15. BRCA1-ассоциированная серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности после НАХТ, скопления лимфоцитов; окр. гематоксилином и эозином, x400

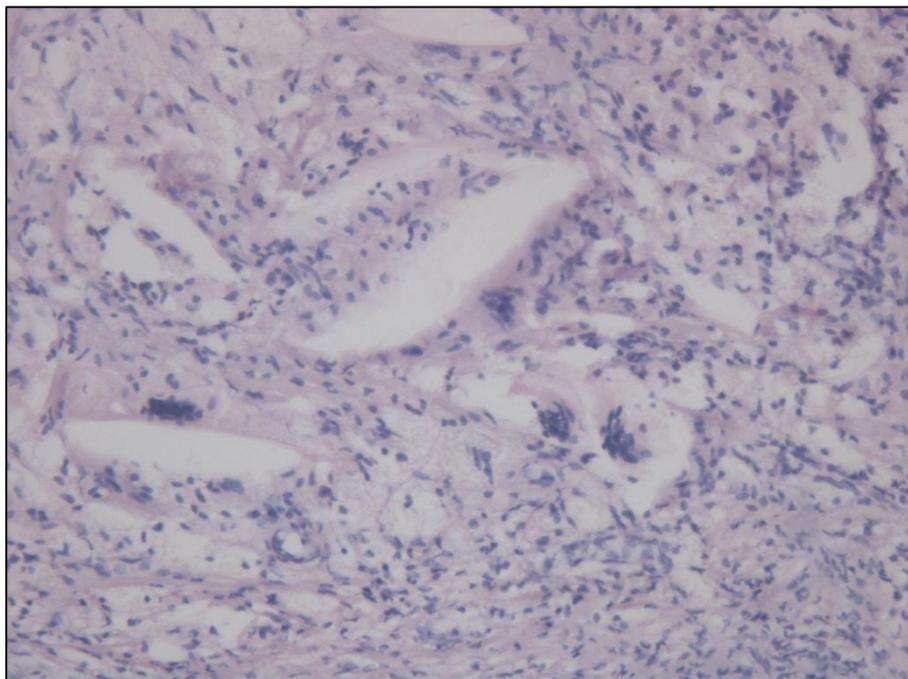


Рис. 16. BRCA1-ассоциированная серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности после НАХТ, гигантские многоядерные клетки; окр. гематоксилином и эозином, x200

Выполнение рутинного окрашивания микропрепаратов гематоксилином и эозином

Все опухоли были исследованы макроскопически с соблюдением всех правил проведения макроскопической диагностики опухолей [6]. Для гистологического исследования были взяты кусочки карцином, макроскопически лишенные признаков некроза. Исследуемый материал погружали в 10%-ый раствор формалина с целью фиксации на 1 сутки при температуре 18–20°C. После этого образцы в течение 2 часов промывались дистиллированной водой. Далее они подвергались обезвоживанию в абсолютизированном изопропиловом спирте в течение 20 часов, и затем фрагменты тканей были заключены. Срезы толщиной 3 мкм изготавливались на санном микротоме Leica и наносились на предметные стёкла с белком при помощи методики наклеивания парафиновых срезов с подогретым крепким спиртом. Окраска парафиновых срезов проводилась по следующей методике: депарафинизация при помощи ксилола, который наливают

прямо на срез и выдерживают в течение 1–2 минут. После растворения ксилол смывали с препарата при помощи 96%-го этилового спирта, затем препарат промывали дистиллированной водой. Далее опускали срез в раствор профильтрованного гематоксилина. Окрашивание происходило в течение 5-10 минут, в зависимости от «зрелости» гематоксилина. Препарат погружали в большую чашку с водой и промывали в воде 3-10 минут, ожидая «посинения» среза. Только что окрашенные гематоксилином срезы имели красновато-фиолетовый тон, который при промывании в подщелоченной воде переходил в синий. Хорошо промытый и «посиневший» срез извлекали из воды и опускали в раствор эозина. Окрашивали в течение 0,5-1 мин. Далее промывали в большой чашке с дистиллированной водой 0,5-1 мин. После осушения препарата его осторожно опускали в 96%-ый этиловый спирт с выдержкой от 0,5 до 3-5 минут. Затем препарат извлекался из спирта, быстро удалялись его остатки вокруг среза и, не давая ему подсохнуть, опускался в «просветляющее» вещество (ксилол) примерно на 1-3 минуты и быстро (0,5-1 мин) препараты промывались ксилолом. После чего удалялись остатки ксилола вокруг среза, укладывалась капля канадского бальзама и препараты покрывались покровным стеклом.

Выполнение иммуногистохимического исследования

С каждого парафинового блока злокачественной опухоли молочной железы с помощью микротомы Leica SM 2000R (Sliding Microtome for Routine Applications) были получены срезы толщиной 4 микрона. Парафиновые срезы были расплавлены на водяной бане Гистобат Leica HP210. После этого препараты помещались на стекло, покрытое L-полилизином, и высушивались в термостате при температуре 37°C в течение 2 часов. Затем срезы подвергались депарафинизированию в о-ксилоле дважды по пять минут, отмыванию и обезвоживанию в четырёх сменах 96%-ого спирта по 5 мин. В дальнейшем проводилось блокирование эндогенной пероксидазы в 3% перекиси водорода на воде в течение 5 минут. После этого стекла промывались в дистиллированной

воде в течение 3 минут. Далее производилась демаскировка антигенов путем кипячения в цитратном буфере с pH 6.0 или в ЭДТА с pH 9.0 в водяной бане при температуре буфера 95-99°C в течение 20 мин, затем еще 20 мин стекла остужались в контейнерах при комнатной температуре. После этого стекла переносились в дистиллированную воду на 1–2 мин с последующим промыванием TBS – промывочным буфером (DAKO, Denmark Дания) дважды с экспозицией по 5 мин. Затем срезы обводились парафиновым карандашом (DakoCytomation Pen, код S200230–2) в контейнере с плоским дном во влажной среде.

Первые антитела разводились при помощи специального буфера (Antibody Diluent with Background Reducing Components фирмы DakoCytomation, code S3022) для разведения антител с компонентом, препятствующим неспецифическому связыванию антител. Разведение, специфичность и производители первых антител указаны в табл. 11.

Экспозиция первых антител составляла один час при постоянной температуре 20°C, затем стекла со срезами промывались в TBS–буфере дважды по 5 минут.

Таблица 11

Характеристика первых антител

Антитело	Клон	Специфичность	Рабочее разведение	Фирма–производитель
1	2	3	4	5
Ki–67	SP6	Ядерное окрашивание	1:50	DBS
P53	DO-7	Ядерное окрашивание	1:100	DBS
PR	NCL-L-PGR312	Ядерное окрашивание	1:100	Leica
ER	NCL-L-ER-6F11	Ядерное окрашивание	1:100	Leica

Антитело	Клон	Специфичность	Рабочее разведение	Фирма–производитель
HER2	CERBB2	Мембранное окрашивание	1:400	DAKO
CK7	OV-TL12/30	Мембранное окрашивание	1:100	DAKO
CK20	KS20.8	Мембранное окрашивание	1:100	Cell-Marque
CDX2	EPR27644	Ядерное окрашивание	1:300	Cell-Marque
WT1	6F-H2	Ядерное окрашивание	1:100	DAKO
Synapto physin	MRQ-40	Цитоплазматическое окрашивание	1:200	CMQ
P16	P16ink4a	Цитоплазматическое окрашивание	1:50	BioGenex
TTF1	NCL-L-TTF1	Ядерное окрашивание	1:150	Leica
CK8	EP17	Цитоплазматическое окрашивание	1:200	Epitomics
PAX8	MRQ-50	Ядерное окрашивание	1:100	CMQ
SMA	NCL-SMA	Цитоплазматическое окрашивание	1:75	Novocastra
MyoD1	5.8A	Ядерное окрашивание	1:20	DAKO
GCDFP 15	23A3	Цитоплазматическое окрашивание	1:50	CMQ
Desmin	D33	Цитоплазматическое окрашивание	1:100	DAKO
vimentin	V9	Цитоплазматическое окрашивание	1:100	DAKO
МСК	AE1/AE3	Цитоплазматическое	1:100	CMQ

Антитело	Клон	Специфичность	Рабочее разведение	Фирма–производитель
		е окрашивание		

Связывание вторых антител с клетками опухоли определялось при помощи стандартного биотин–стрептавидин–пероксидазного метода с диаминобензидином в качестве хромогена. После реакции с диаминобензидином срезы промывались в дистиллированной воде в течение 3 мин и подвергались дополнительной окраске при помощи гематоксилина Майера в течение 1-2 мин, далее они отмывались в воде в течение 15 мин, дегидрировались в 96% спиртах, изопропиловых спиртах, осветлялись в ксилоле в течение 5 мин. Срезы заключались в канадский бальзам.

Интерпретация результатов иммуногистохимического исследования

Интерпретация результатов иммуногистохимического исследования ER и PR

Положительной считалась реакция, при которой наблюдалось ядерное окрашивание 1% опухолевых клеток или более. Отрицательной считалась ядерная реакция любой интенсивности в менее 1% опухолевых клеток при наличии корректной реакции в положительном контроле.

Интерпретация результатов иммуногистохимического исследования HER2

Интерпретация результатов иммуногистохимического исследования HER2 представлена в табл. 12.

Интерпретация результатов иммуногистохимического исследования HER2

ИГХ-реакция (баллы)	Картина реакции	Оценка экспрессии HER2
1	2	3
0	Отсутствие мембранного окрашивания или наличие слабого окрашивания менее 10% опухолевых клеток	Негативная
1+	Слабое и неполное окрашивание более 10% опухолевых клеток или слабое равномерное мембранное окрашивание менее 10% опухолевых клеток	Негативная
2+	Слабое равномерное или яркое неполное мембранное окрашивание более 10% опухолевых клеток, или яркое равномерное мембранное окрашивание менее 10% опухолевых клеток	Неопределённая
3+	Яркое равномерное мембранное окрашивание более 10% опухолевых клеток	Позитивная

Интерпретация результатов иммуногистохимического исследования Ki-67

При оценке индекса Ki-67 учитывалось только ядерное окрашивание, без учёта его интенсивности, а также тип экспрессии маркера (перинуклеолярный, нуклеоплазмальный, перихромосомный). Подсчёт включал 500 опухолевых клеток. Подсчёт проводился в трёх полях зрения при увеличении x400. В случаях гетерогенности опухоли выбирались участки опухоли с наибольшей митотической активностью.

Интерпретация результатов иммуногистохимического исследования p53

Уровень экспрессии p53 оценивался при помощи подсчёта позитивно окрашенных ядер опухолевых клеток. Положительной считалась реакция, при которой наблюдается выраженное ядерное окрашивание 75% опухолевых клеток или более.

Мануальная микродиссекция

Начальный этап заключался в выполнении серии последовательных срезов опухоли толщиной 3-5 мкм. Первый и заключительный срез окрашивались гематоксилином и эозином по стандартной методике для контроля наличия опухолевых клеток на промежуточных срезах. На стекле, окрашенном гематоксилином и эозином, маркером отмечались области, в которых производилась микродиссекция (поля опухоли, скопления опухолевых клеток с очевидным преобладанием более 80%). Затем соответствующие неокрашенные срезы депарафинизировали ксилолом и обезвоживали этиловым спиртом восходящей плотности. Микродиссекция выполнялась путём наложения неокрашенного среза на предварительно «картированный» окрашенный гематоксилином и эозином срез. После чего выполнялось тщательное соскабливание участка опухоли на неокрашенном срезе при помощи одноразового хирургического скальпеля. Количество неокрашенных срезов толщиной 3-5 мкм, с которых производилось соскабливание, варьировало от 5 до 20 в зависимости от обширности опухолевого поражения, плотности распределения живых опухолевых клеток, участков с максимальным количеством опухолевых клеток и минимальным объёмом стромальных опухолевых клеток, клеток воспалительного ряда, сосудов.

Во избежание повреждения ткани и контаминации нуклеиновых кислот неопухолевыми элементами все инструменты обрабатывались 100% этанолом, микротом обрабатывался ксилолом, выполнялась частая смена бритв микротомом.

Перед диссекцией все неокрашенные срезы на стёклах высушивались при температуре 37°C в течение 12 часов (на ночь).

Экстракция ДНК из парафиновых блоков

Экстракция ДНК производилась из фиксированных формалином, помещенных в парафин образцов при помощи метода с применением фенола и хлороформа, ранее описанного в работе [94]. Секции ткани депарафинизировались в 2 сменах ксилола (500 мкл) при комнатной температуре и 1 смене 96% этанола (500 мкл), затем лизировались в течение 16 часов или в течение ночи в буферном растворе (10 мМ Tris-HCl, pH 8.0, 0.1 мМ EDTA, 2% SDS) с протеиназой К (500 мкг/мл) при температуре 60°C. На следующий день добавлялись равный объем фенола, хлороформа и изоамилового спирта (25:24:1), выполнялись перемешивание и центрифугирование. Верхняя водная фракция перемещалась в отдельную пробирку. После этого осуществлялась преципитация нуклеиновых кислот в 0,25 М ацетата натрия, 20 мг/мл гликогенового носителя и 2 объемах этанола. На следующий день раствор центрифугировался в течение 30 мин при температуре 0–5°C. Преципитаты отмывались 70%-ным этанолом для удаления солей, после чего производилось растворение ДНК в 20 мкл стерильной воды.

Генотипирование для поиска «фаундер»-мутаций в генах, ассоциированных с РМЖ

Генотипирование наиболее часто встречающихся в российской популяции мутаций в генах BRCA1 (табл. 11) выполнялось при помощи аллель-специфической ПЦР (рис. 17, табл. 12). В каждой реакции использовались приблизительно 20 нг ДНК, 1 единица температурно-активируемой Taq (термостабильной)-ДНК-полимеразы, 1x ПЦР-буфер (pH 8.3), 1.5 мМ MgCl₂, 200 мкМ dNTP (нуклеозидные трифосфаты с дезоксирибозой), 0.5 мкМ каждого

праймера и 0.2x краситель SYBR Green, окрашивающего нуклеиновые кислоты, в конечном объеме 20 мкл. ПЦР-амплификация производилась при помощи аппарата CFX96 Real-Time System: (Bio-Rad). При каждой постановке реакции использовались позитивные и негативные контроли. Последовательность праймеров и условия проведения ПЦР представлены в табл. 13 и 14.

Таблица 13

Список определявшихся «фаундер»-мутаций, их локализация и последовательность

Ген	Мутация	Экзон	Тип мутации	Домен
BRCA1	185delAG	2	Сдвиг рамки считывания	Zinc-finger motif
BRCA1	4153delA	11	Сдвиг рамки считывания	Комплекс экзонов 11–13
BRCA1	5382 insC	20	Сдвиг рамки считывания	BRCT

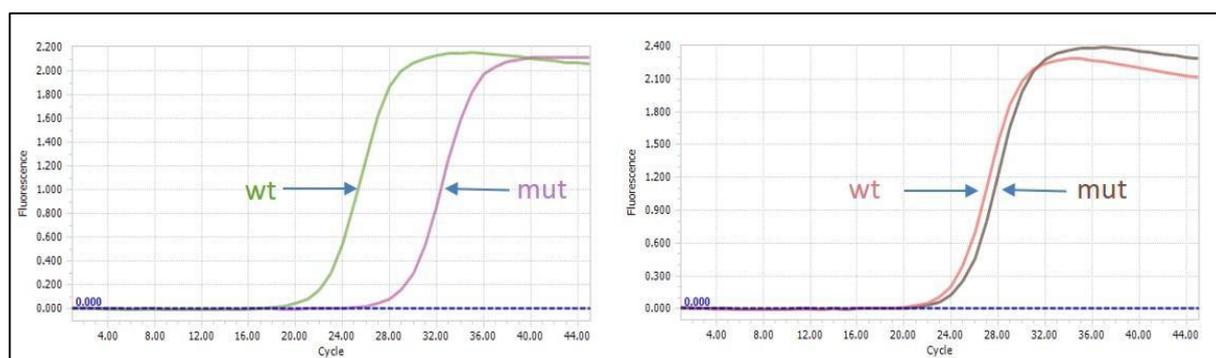


Рис. 17. Детекция мутации BRCA1 5382insC методом аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени. В левой части рисунка представлен образец без мутации, в правой – образец, содержащий мутацию. Wt – результат амплификации с парой праймеров, специфичной к последовательности дикого типа, mut - результат амплификации с парой праймеров, специфичной к последовательности с мутацией

Статистический анализ

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения SPSS Version 17.

Была создана электронная база данных, в которую вносились исследуемые показатели. В анализе данных использовались следующие статистические методы:

1. Описательная статистика (частоты, среднее значение, медиана, стандартная ошибка, стандартное отклонение).

2. Проверка гипотезы нормальности распределения случайной величины по критерию Колмогорова-Смирнова.

3. Оценка значимости различия средних значений в несвязанных выборках при нормальном распределении величин при помощи t-критерия и по U-критерию в тесте Манн-Уитни при ненормальном распределении.

4. Для сравнения малых групп использовался точный тест Фишера.

Для оценки отдаленных результатов лечения (общей выживаемости больных) применяли метод Каплана-Мейера (метод множительных оценок).

Все различия считались достоверными при доверительной вероятности не менее 95% (уровень значимости $p < 0,05$).

Последовательность праймеров и условия ПЦР для обнаружения 3 «фаундер»-
мутаций в генах BRCA1

Мутация	Праймер	5'-3' последовательность		Длина продукта
BRCA1 5382insC	Дик. тип	CAAAGCGCAAGAGAATCCCAG		101 bp
	Мутация	CAAAGCGAGCAAGAGAATCCCCA		
	Общий	TCTGCAAAGGGGAGTGGAATACA		
Условия ПЦР (50 циклов)				
Темп [°C]	95	68	72	
время [сек]	15	30	30	
мутация	праймер	5'-3' последовательность		Длина продукта
BRCA1 4153delA	Дик. тип	AGCCCGTTCCTCTTTCTTC		134 bp
	Мутация	AGCCCGTTCCTCTTTCTCA		
	Общий	GACTGCAAATACA AACACCCA		
Условия ПЦР (50 циклов)				
Темп [°C]	95	62	72	

время [сек]	15	30	30
мутация	праймер	5'-3' последовательность	Длина продукта
BRCA1	Дик. тип	GCTATGCAGAAAATCTTAGAGTGTCC	173 bp
185delA	Мутация	ATGCTATGCAGAAAATCTTAGTGTCC	
G	Общий	CAGTTAAGGAAATCAGCAATTACAATA GC	
Условия ПЦР (50 циклов)			
Темп [°C]	95	69	72
время [сек]	15	30	30

Глава 3. Результаты собственных исследований

3.1. Рак молочной железы

Общая клинико-морфологическая характеристика BRCA1-ассоциированных опухолей молочной железы

Молекулярное тестирование founder-мутаций (BRCA1 5382insC [с.5266dupC], BRCA1 4153delA [с.4034delA], BRCA1 185delAG [с.68_69delAG]) было успешным у 414 пациенток.

Мутация BRCA1 была обнаружена у 4.6% (n = 19) женщин. Средний возраст больных РМЖ с мутацией BRCA1 составил 40.9 лет и варьировал от 27 до 50 лет. Клиническая распространённость первичной опухоли среди BRCA1-ассоциированных карцином была распределена следующим образом: сT1 – 2 (10.5%) пациентки, сT2 - 11 (57.9%) пациенток, сT3 - 3 (15.8%) пациенток, сT4 - 3 (15.8%) пациенток. Средний возраст больных РМЖ без мутации BRCA1 составил 43.1 года и варьировал от 23 до 50 лет. Клиническая распространённость первичной опухоли среди спорадических карцином была распределена следующим образом: сT1 – 8 (2%) пациенток, сT2 - 132 (33.4%) пациентки, сT3 – 105 (26.6%) пациенток, сT4 – 149 (37.7%) пациенток. Сведения о клинической распространённости первичной опухоли отсутствовали у 1 (0.3%) пациентки.

В табл. 15 приведены клинические характеристики случаев с носительством мутаций и их сравнение с опухолями без мутации BRCA1.

Клинические характеристики пациенток с носительством мутаций BRCA1 и пациенток без мутаций

	Носительницы мутации BRCA1	Пациентки без мутации
Число пациенток	19	395
Возраст (лет)		
Среднее значение	40.9	43.1
Диапазон	27–50	23–50
Распространённость опухолей		
cT1	2 (10.5%)	8 (2%)
cT2	11 (57.9%)	132 (33.4%)
cT3	3 (15.8%)	105 (26.6%)
cT4	3 (15.8%)	149 (37.7%)
cTx	0 (0.0%)	1 (0.3%)

Морфологическая характеристика BRCA1-ассоциированных опухолей молочной железы

В ходе микроскопического исследования препаратов BRCA1-ассоциированных РМЖ у 13 (100%) больных выявлен неспецифический (дуктальный) гистотип опухоли (рисунки 18-21). У 6 пациенток парафиновые блоки и микропрепараты были недоступны для исследования. В 33.3% (n = 2) случаев была выявлена 2-ая степень дифференцировки опухоли (умеренная), а в 66.7% (n = 4) случаев 3-я степень дифференцировки опухоли (низкая). Случаев с 1-ой степенью дифференцировки опухоли среди BRCA1-ассоциированных РМЖ не выявлено. Сведения о степени дифференцировки первичной опухоли отсутствовали у 13 больных. В группе больных РМЖ без мутации BRCA1 неспецифический (дуктальный) гистологический тип опухоли выявлен у 157 (85.8%) пациенток, дольковый гистологический тип у 13 (7.1%) пациенток, другие специфические варианты у 13 (7.1%) пациенток (из них 5 пациенток – муцинозная

карцинома (рисунки 22-23), 2 пациентки – медуллярная карцинома (рис. 24-25), 2 пациентки – тубулярная карцинома (рис. 26-27), 1 пациентка – секреторная карцинома, 3 пациентки – смешанные карциномы). В 12.8% (n = 17) случаев была выявлена 1-ая степень дифференцировки опухоли (высокая), в 49.6% (n = 66) случаев была выявлена 2-ая степень дифференцировки опухоли (умеренная), а в 37.6% (n = 50) случаев - 3-я степень дифференцировки опухоли (низкая). Сведения о степени дифференцировки первичной опухоли отсутствовали у 262 больных.

В табл. 16 приведены морфологические характеристики случаев с носительством мутаций и их сравнение с опухолями без мутации BRCA1.

Таблица 16

Морфологические характеристики пациенток с мутациями BRCA1 и пациенток без мутаций

	Носительницы мутации BRCA1	Пациентки без мутаций
Гистологич. тип		
Неспецифический	13 (100%)	157 (85.8%)
Дольковый	0 (0.0%)	13 (7.1%)
Другой	0 (0.0%)	13 (7.1%)
Нет данных	6	211
Гистологическая степень злокачественности		
G1	0 (0.0%)	17 (12.8%)
G2	2 (33.3%)	66 (49.6%)
G3	4 (66.7%)	50 (37.6%)
Не определена	13	262

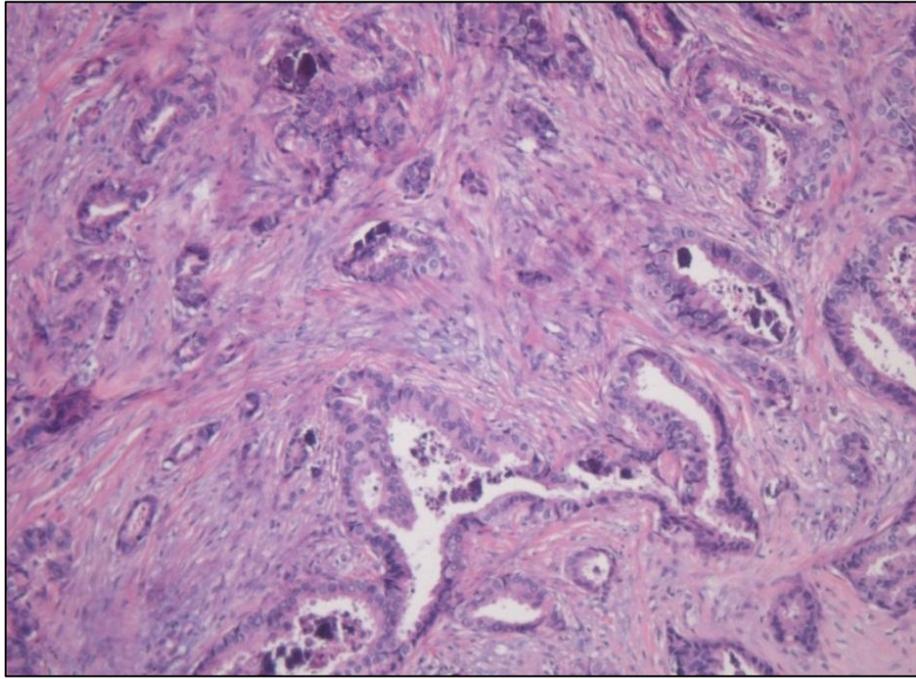


Рис. 18. Спорадический инвазивный неспецифический РМЖ, NST (дуктальный), окр. гематоксилином и эозином, x100

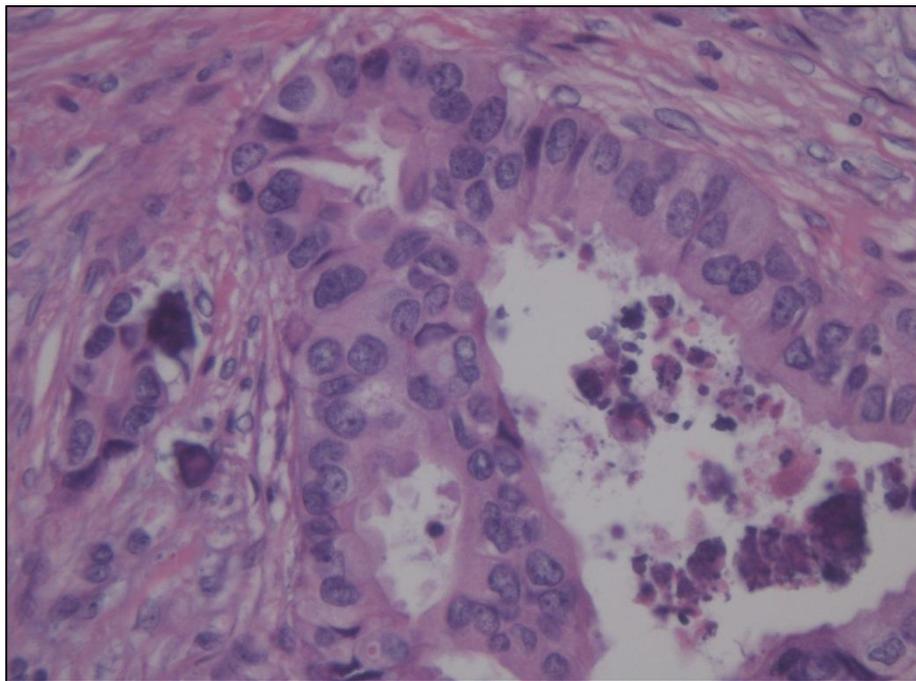


Рис. 19. Спорадический инвазивный неспецифический РМЖ, NST (дуктальный), окр. гематоксилином и эозином, x400

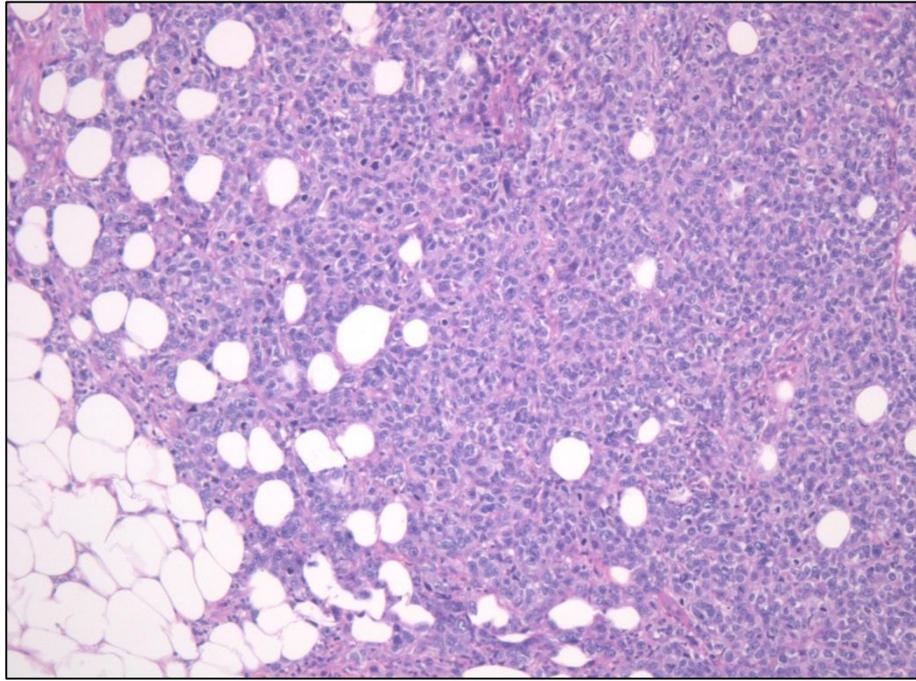


Рис. 20. BRCA1-ассоциированный инвазивный неспецифический РМЖ, NST (дуктальный), окр. гематоксилином и эозином, x100

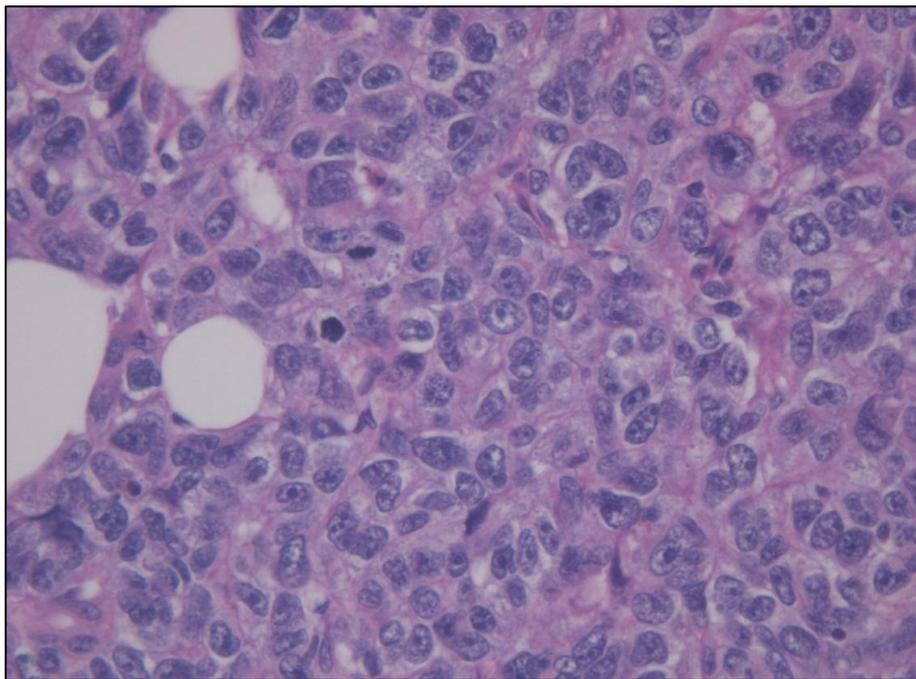


Рис. 21. BRCA1-ассоциированный инвазивный неспецифический РМЖ, NST (дуктальный), окр. гематоксилином и эозином, x400

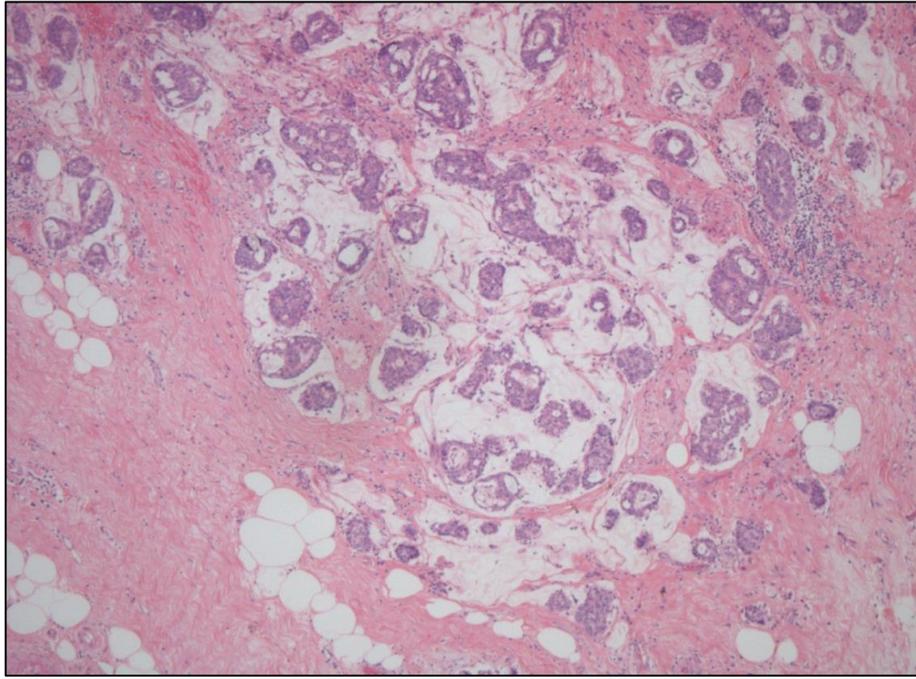


Рис. 22. Муцинозный РМЖ, окр. гематоксилином и эозином, х50

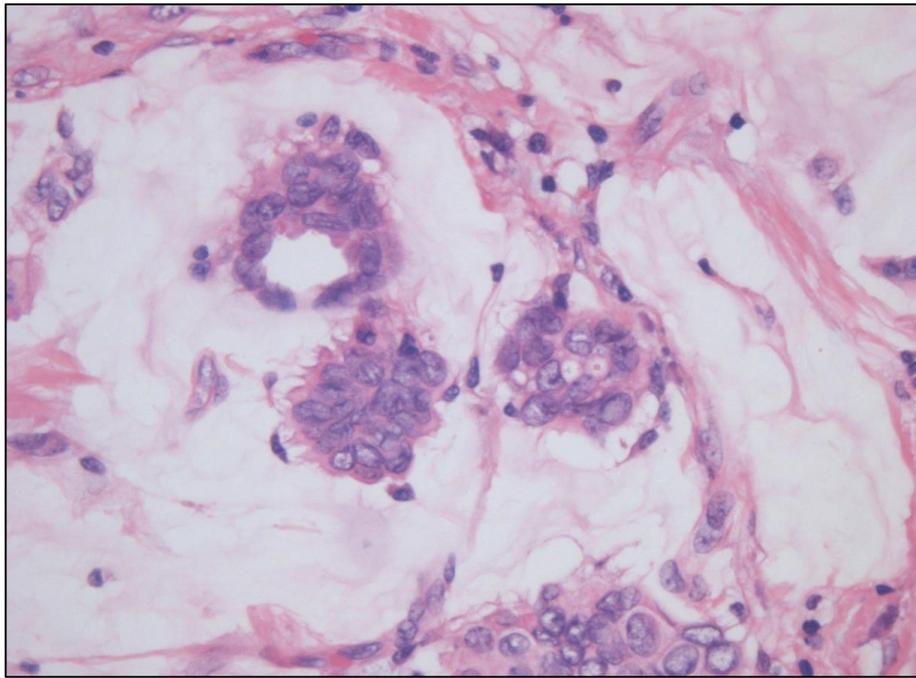


Рис. 23. Муцинозный РМЖ, окр. гематоксилином и эозином, х400

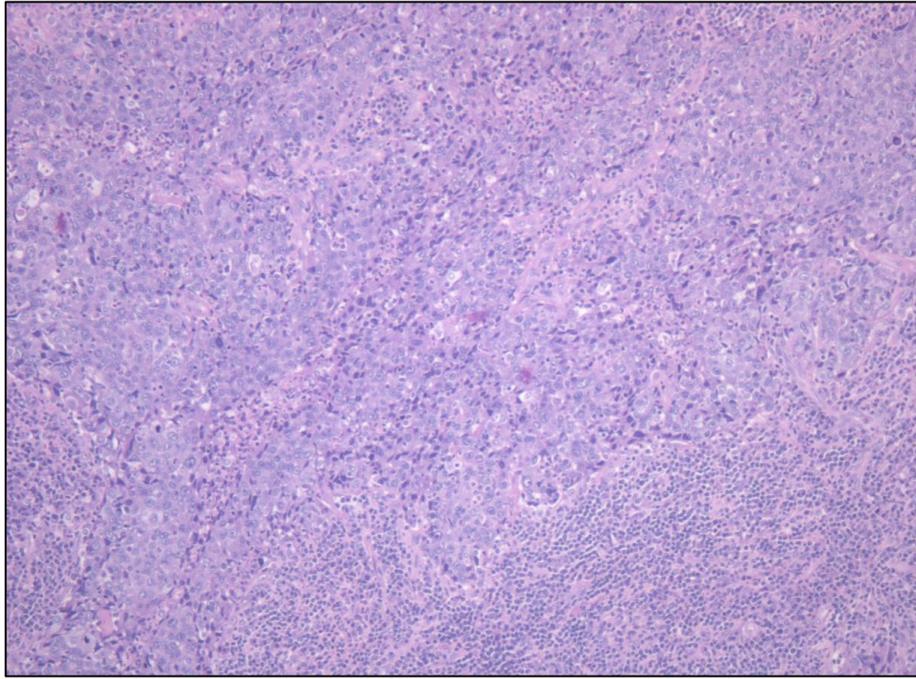


Рис. 24. Медуллярный РМЖ, окр. гематоксилином и эозином, х200

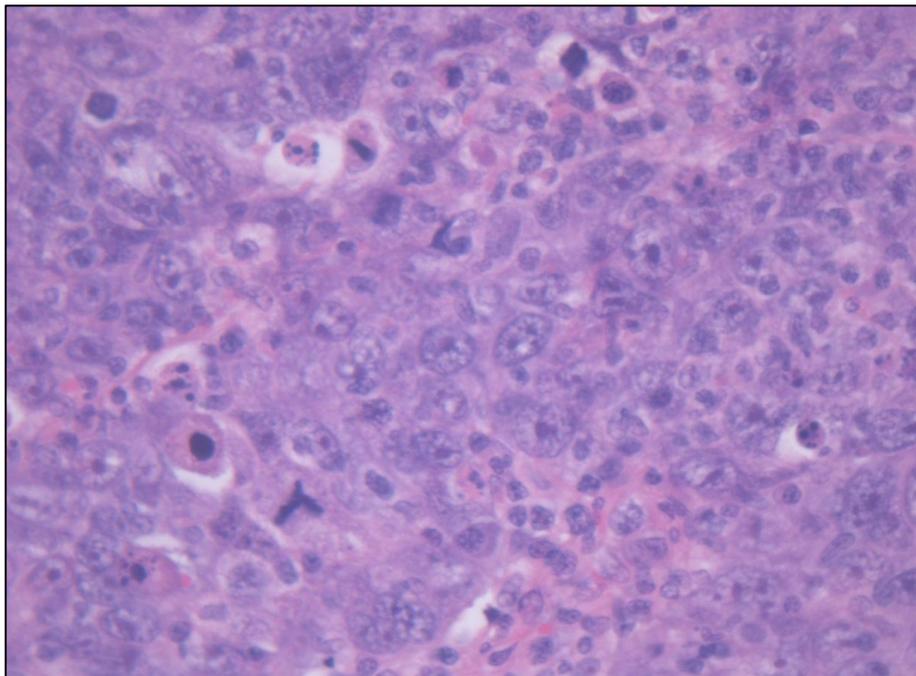


Рис. 25. Медуллярный РМЖ, окр. гематоксилином и эозином, х400

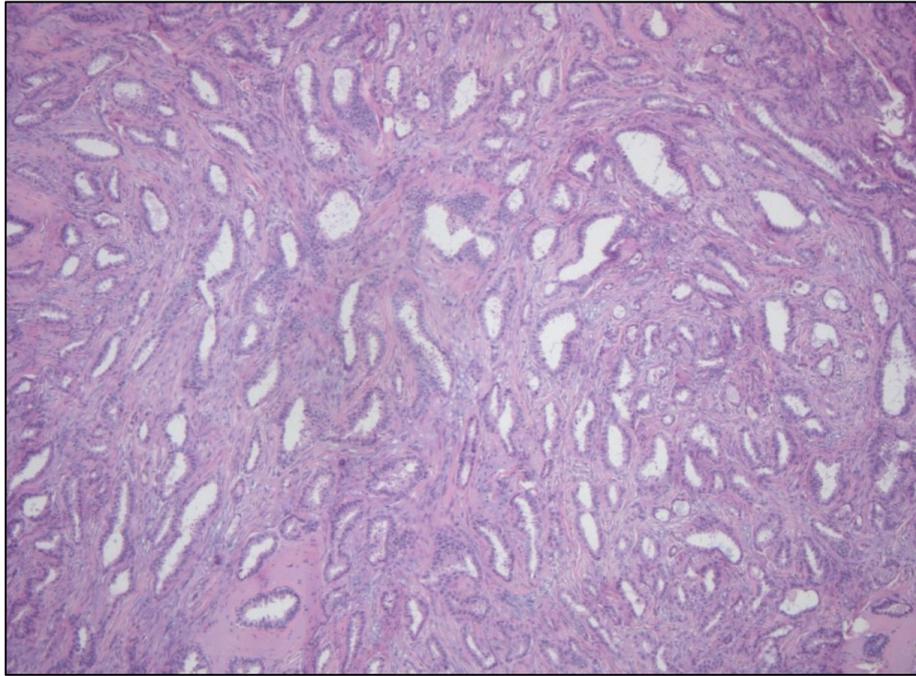


Рис. 26. Тубулярный РМЖ, окр. гематоксилином и эозином, х50

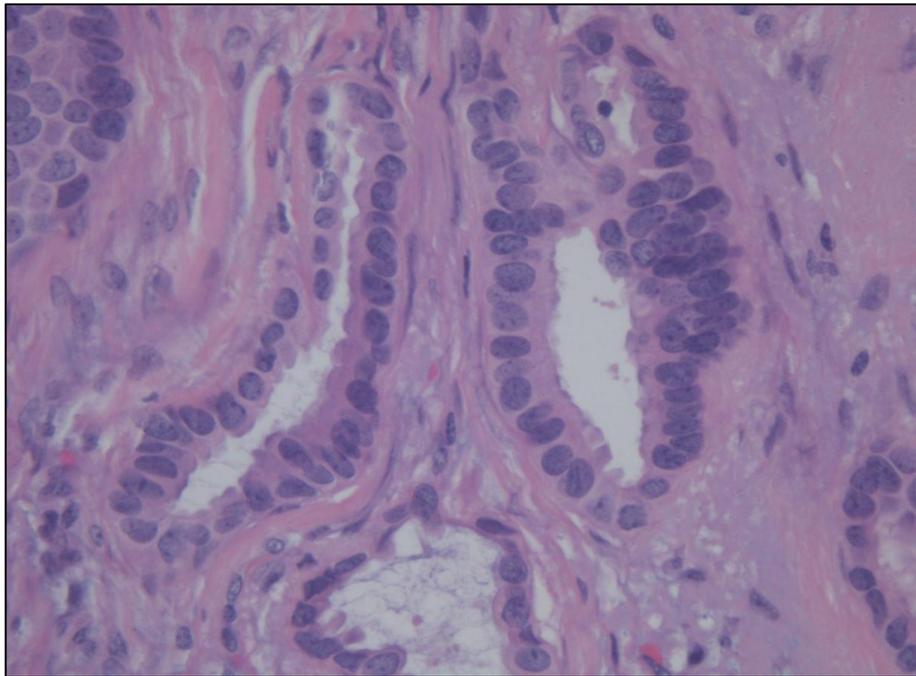


Рис. 27. Тубулярный РМЖ, окр. гематоксилином и эозином, х400

Иммуногистохимическая характеристика BRCA1-ассоциированных опухолей молочной железы

В результате иммуногистохимического исследования препаратов BRCA1-ассоциированных РМЖ положительная экспрессия ER выявлена у 2 (13.3%) больных, в то время как отрицательная экспрессия ER наблюдалась у 13 (86.7%) больных. Парафиновые блоки с образцом опухоли были недоступны для изучения статуса ER, PR, HER2 у 4 больных.

Положительная экспрессия PR в группе BRCA1-ассоциированных РМЖ выявлена у 3 (20.0%) больных, в то время как отрицательная экспрессия PR наблюдалась у 12 (80.0%) больных.

Положительная экспрессия HER2 в группе BRCA1-ассоциированных РМЖ отмечена у 3 (20.0%) больных (рис. 28), в то время как отрицательная экспрессия PR была выявлена у 12 (80.0%) больных.

Количество трижды негативных BRCA1-ассоциированных РМЖ составило 80.0% ($n = 12$), лишь в 20% ($n = 3$) случаев наблюдалась положительная экспрессия 1 из 3 перечисленных маркеров (ER, PR, HER2).

В контрольной группе спорадических РМЖ без носительства мутаций положительная экспрессия ER выявлена у 137 (60.8%) больных (рис. 29), в то время как отрицательная экспрессия ER наблюдалась у 88 (39.2%) больных. Парафиновые блоки с образцом опухоли были недоступны для изучения статуса ER, PR у 170 больных.

Положительная экспрессия PR в группе спорадических РМЖ без носительства мутаций выявлена у 120 (53.3%) больных (рис. 30), в то время как отрицательная экспрессия PR наблюдалась у 105 (46.7%) больных.

Положительная экспрессия HER2 в группе спорадических РМЖ без носительства мутаций отмечена у 167 (74.5%) больных, в то время как отрицательная экспрессия PR была выявлена у 57 (25.5%) больных.

Количество трижды негативных спорадических РМЖ без носительства мутаций РМЖ составило 25.5% ($n = 57$), а в 74.5% ($n = 167$) случаев наблюдалась

положительная экспрессия 1 из 3 маркеров (ER, PR, HER2). В табл. 17 приведены иммуногистохимические характеристики образцов опухоли от носительниц мутаций и их сравнение с опухолями без мутации BRCA1.

Таблица 17

Иммуногистохимические характеристики пациенток с мутациями BRCA1 и пациенток без мутаций

	Носительницы мутации BRCA1	Пациентки без мутации	P (тест Фишера)
Статус ER			
Позитивный	2 (13.3%)	137 (60.8%)	0.0005
Отрицательный	13 (86.7%)	88 (39.2%)	
Нет данных	4	171	
Статус PR			
Позитивный	3 (20.0%)	120 (53.3%)	0.0154
Отрицательный	12 (80.0%)	105 (46.7%)	
Нет данных	4	171	
Статус HER2			
Позитивный	3 (20.0%)	167 (74.5%)	0.0001
Отрицательный	12 (80.0%)	57 (25.5%)	
Нет данных	4	171	
Трижды негативный фенотип			
Нет	3 (20.0%)	167 (74.5%)	0.0001
Да	12 (80.0%)	57 (25.5%)	
Нет данных	4	171	

Морфомолекулярные характеристики РМЖ с полным патоморфологическим ответом опухоли после НАХТ

Сравнительный анализ клинико-морфологических характеристик случаев РМЖ с полным патоморфологическим ответом (ППО) опухоли после НАХТ приведён в табл. 18. Количество ППО среди больных РМЖ с ER-положительным статусом было существенно ниже, чем в ER-негативной группе (10% против 16.8%, $p = 0.023$). Аналогичная тенденция сохранялась при оценке ППО в зависимости от PR-статуса опухоли. Больные РМЖ с PR-положительным

статусом с ППО после НАХТ встречались реже, чем в ER-негативной группе (5.7% против 17.0%, $p = 0.007$). Статистически достоверных различий количества HER2- положительных и HER2-негативных больных РМЖ после НАХТ с ППО не выявлено (5.1% против 9.3%, $p = 0.541$). У больных РМЖ с трижды негативным статусом после НАХТ количество ППО было существенно выше, 21.7% против 7%, $p = 0.003$. Различий количества ППО у больных с неспецифическим (дуктальным) РМЖ после НАХТ по сравнению с другими гистологическими типами РМЖ не наблюдалось (2.4% против 0%, $p = 1.000$). В группе BRCA1-ассоциированных РМЖ количество ППО после НАХТ было значительно выше, чем в группе спорадических РМЖ (31.6% против 11.6%, $p = 0.0217$, см. рис. 30-36).

Таблица 18

Сравнительный анализ морфомолекулярных характеристик пациенток РМЖ с полным патоморфологическим ответом опухоли после НАХТ

Клинические характеристики	Количество больных	Количество полных патоморфологических ответов (%)	P (значение)
ER статус (n = 241)			
Положительный	140	10 (7.1%)	0.023
Негативный	101	17 (16.8%)	
PR статус (n = 241)			
Положительный	123	7 (5.7%)	0.007
Негативный	118	20 (17.0%)	
HER2 (n = 232)			
Положительный	39	2 (5.1%)	0.541
Негативный	193	18 (9.3%)	
Трижды-негативный статус (n = 240)			
Да	69	15 (21.7%)	0.003
Нет	171	12 (7.0)	
Гистотип (n = 197)			
Протоковый рак	170	4 (2.4%)	1.000
Другие	27	0 (0.0%)	
Наследственная мутация BRCA1 (n = 414)			
Нет	395	46 (11.6%)	0.0217
Есть	19	6 (31.6%)	

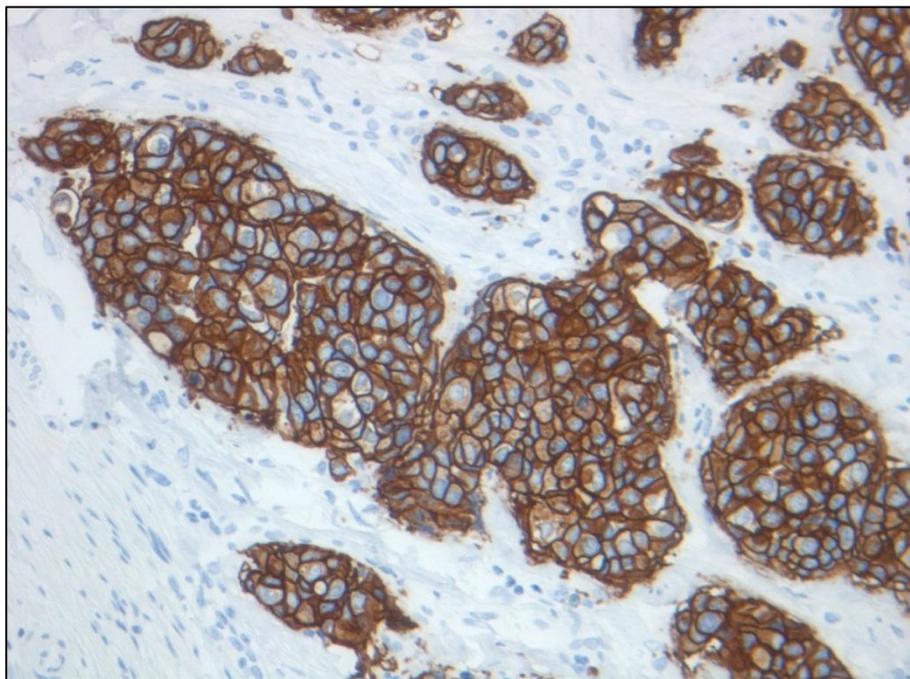


Рис. 28. Инвазивный неспецифический РМЖ, NST (дуктальный), положительная сверхэкспрессия Her-2neu (интенсивное полное мембранное окрашивание), x200

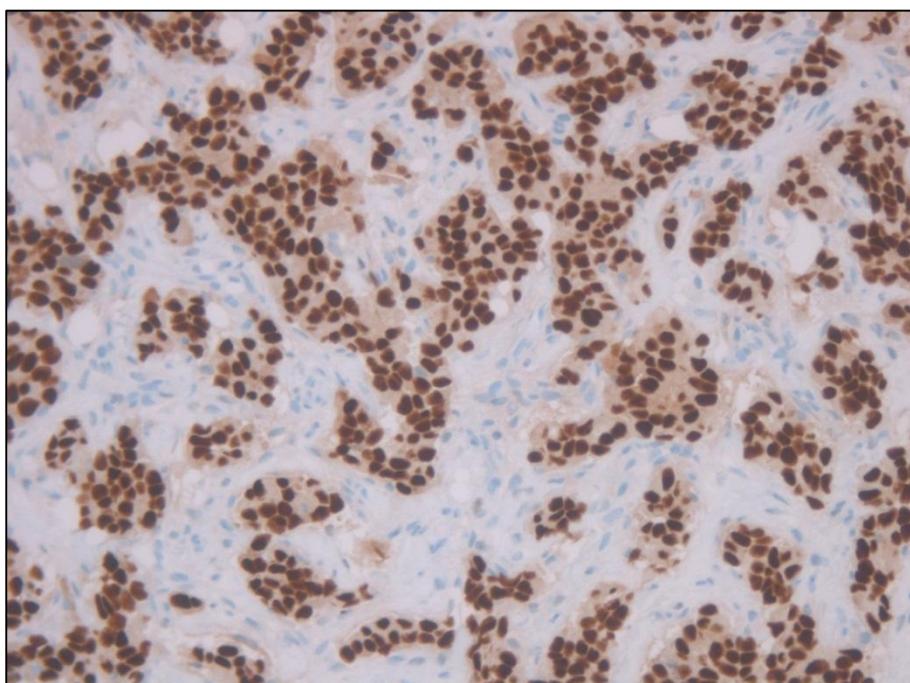


Рис. 29. Инвазивный неспецифический РМЖ, NST (дуктальный), положительная ядерная экспрессия рецепторов эстрогена (ER), x200

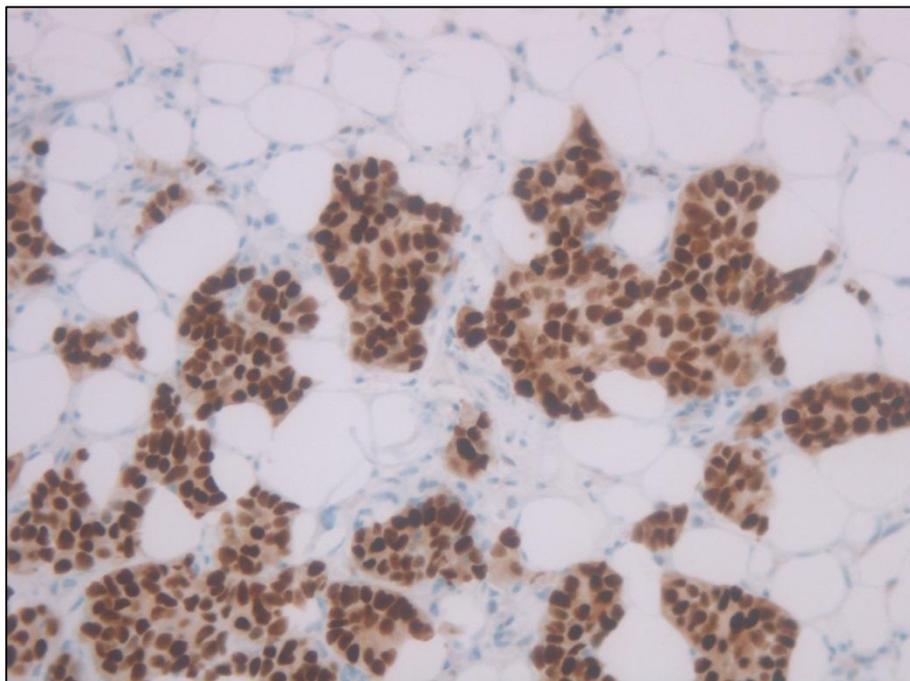


Рис. 30. Инвазивный неспецифический РМЖ, NST (дуктальный), положительная ядерная экспрессия рецепторов прогестерона (PR), x200

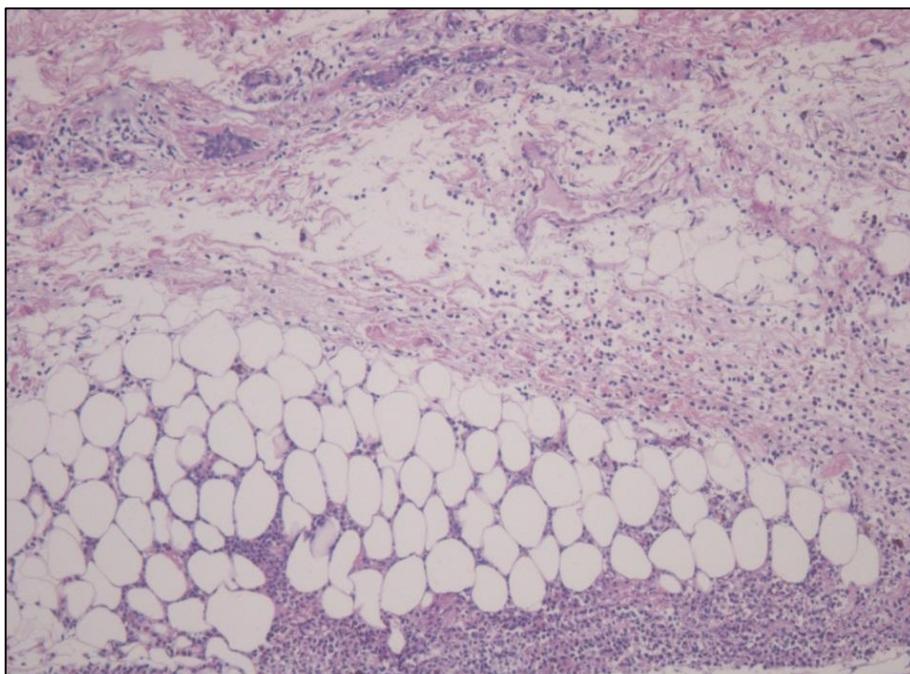


Рис. 31. BRCA1-ассоциированный инвазивный неспецифический рак молочной железы, NST (дуктальный), полный патоморфологический регресс: выраженная диффузная лимфоплазмочитарная инфильтрация, фиброз стромы, окр. гематоксилином и эозином, x100

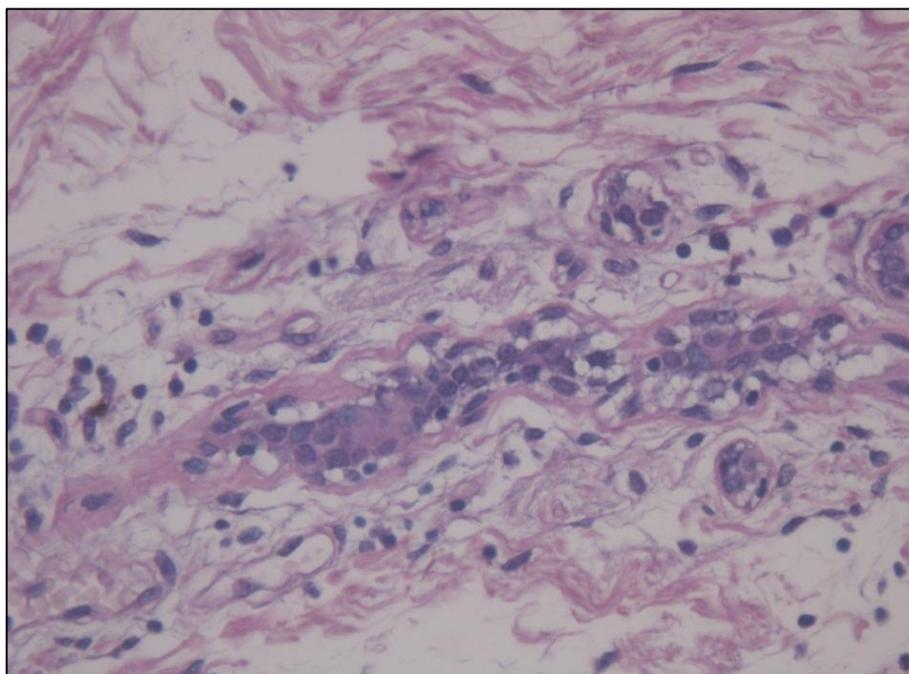


Рис. 32. BRCA1-ассоциированный инвазивный неспецифический рак молочной железы, NST (дуктальный), полный патоморфологический регресс: предсуществующие протоки с наличием миоэпителиоцитов, окр. гематоксилином и эозином, x200

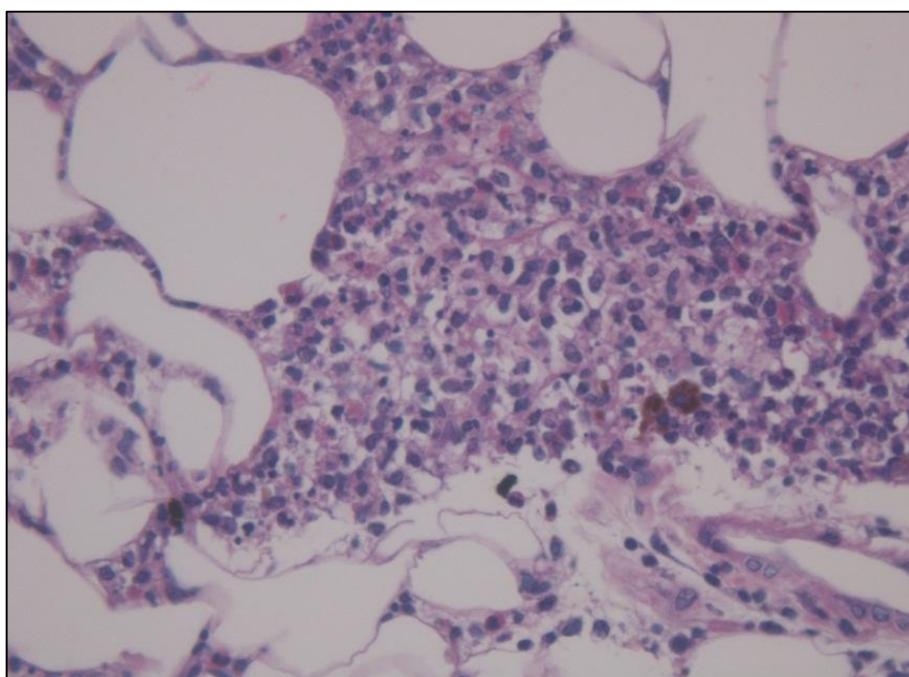


Рис. 33. BRCA1-ассоциированный инвазивный неспецифический рак молочной железы, NST (дуктальный), полный патоморфологический регресс: выраженная диффузная смешанная воспалительная инфильтрация (лимфоциты, плазмоциты, эозинофильные гранулоциты, гемосидерофаги), окр. гематоксилином и эозином, x400

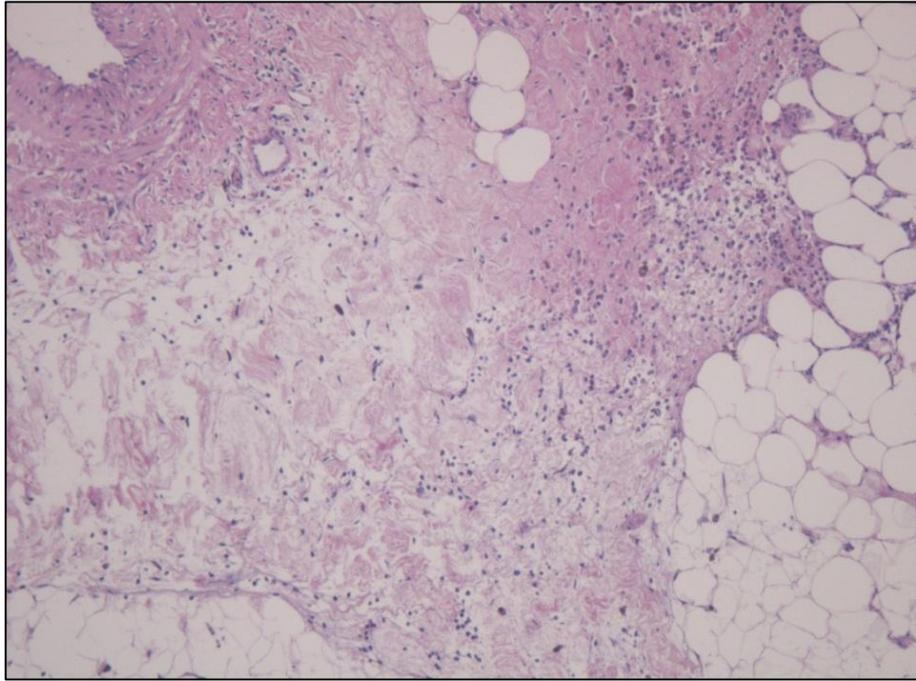


Рис. 34. BRCA1-ассоциированный инвазивный неспецифический рак молочной железы, NST (дуктальный), полный патоморфологический регресс: выраженная диффузный фиброз опухолевого ложа, опухолевые клетки отсутствуют, окр. гематоксилином и эозином, x100

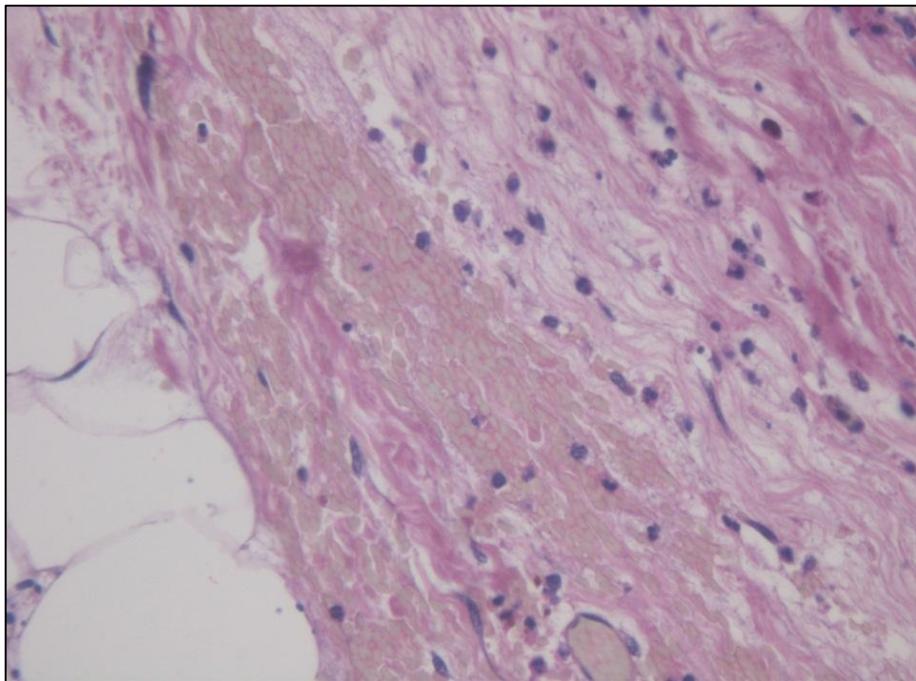


Рис. 35. BRCA1-ассоциированный инвазивный неспецифический рак молочной железы, NST (дуктальный), полный патоморфологический регресс: скопления эритроцитов в строме, окр. гематоксилином и эозином, x100

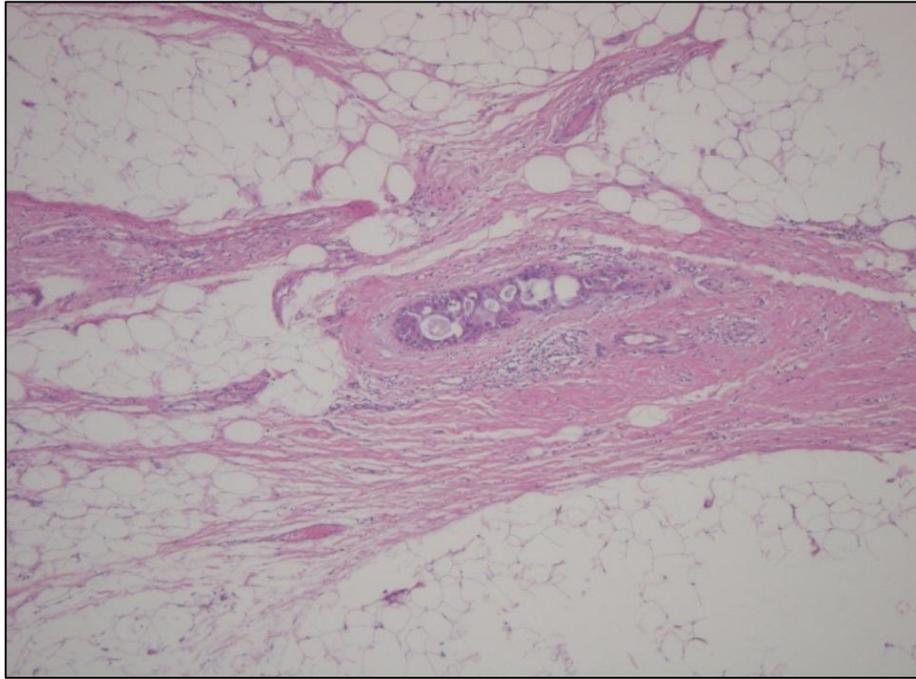


Рис. 36. BRCA1-ассоциированный инвазивный неспецифический рак молочной железы, NST (дуктальный), полный патоморфологический регресс: протоковая *ca in situ*, окр. гематоксилином и эозином, x100

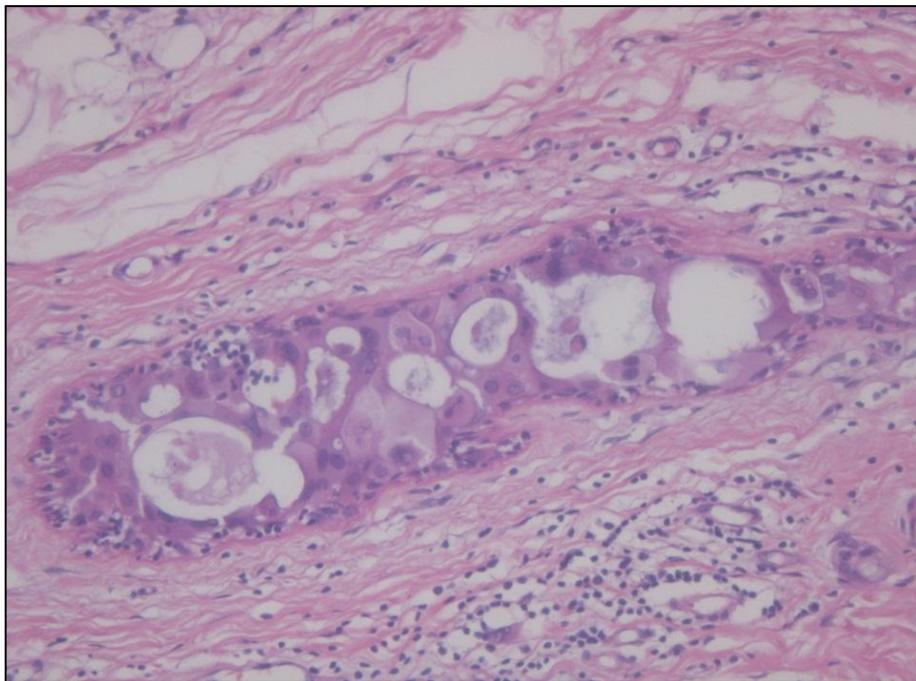


Рис. 37. BRCA1-ассоциированный инвазивный неспецифический рак молочной железы, NST (дуктальный), полный патоморфологический регресс: протоковая *ca in situ*, окр. гематоксилином и эозином, x200

Анализ 3-летней выживаемости пациенток с BRCA1-ассоциированным РМЖ после НАХТ

Показатель 3-летней выживаемости проанализирован у 13 из 19 больных BRCA1-ассоциированным РМЖ после НАХТ. В исследуемом временном интервале летальный исход заболевания был зарегистрирован у 2 больных с неполным патоморфологическим ответом. Таким образом, если среди BRCA1-ассоциированных РМЖ с ППО 3-летняя выживаемость равнялась 100%, то в группе BRCA1-опосредованных опухолей с неполным патоморфологическим ответом этот показатель был меньше и составил $77.8\% \pm 14.7\%$ ($p = 0.538$) (табл. 19).

Таблица 19

Характеристика продолжительности жизни больных с BRCA1-ассоциированным РМЖ после НАХТ

Номер пациентки	Степень патоморфологического ответа	Время наблюдения (годы)	Завершенность наблюдения
1	Полный ответ	11.8	Жива
2	Полный ответ	11.9	Жива
3	Полный ответ	4.8	Жива
4	Полный ответ	12.5	Жива
5	Неполный ответ	1.6	Умерла
6	Неполный ответ	0.8	Умерла
7	Неполный ответ	7.0	Жива
8	Неполный ответ	7.0	Жива
9	Неполный ответ	5.7	Жива
10	Неполный ответ	4.8	Жива
11	Неполный ответ	5.6	Жива
12	Неполный ответ	11.9	Жива
13	Неполный ответ	4.8	Жива

Анализ отдалённых результатов лечения больных РМЖ с ППО после НАХТ

Общая выживаемость оценена у 22 пациенток с ППО из 52. Медиана наблюдения за больными составила 10.0 лет (от 0.3 до 16.3 лет) (табл. 20). У больных BRCA1-ассоциированным РМЖ с ППО медиана общей выживаемости составила 11.9 лет, а в группе пациенток со спорадическим РМЖ – 8.8 лет ($p=0.35$, критерий Гехана) (рис. 38).

Таблица 20

Характеристика продолжительности жизни больных РМЖ с ППО после НАХТ

Номер пациента	Степень патоморфологического ответа	Завершенность случая	Время наблюдения (годы)	BRCA1 мутация
1	Полный ответ	Жива	11.8	Есть
2	Полный ответ	Жива	11.9	Есть
3	Полный ответ	Жива	4.8	Есть
4	Полный ответ	Жива	12.5	Есть
5	Полный ответ	Умерла	10.7	Нет
6	Полный ответ	Жива	14.0	Нет
7	Полный ответ	Жива	16.3	Нет
8	Полный ответ	Жива	15.3	Нет
9	Полный ответ	Жива	10.5	Нет
10	Полный ответ	Умерла	12.4	Нет
11	Полный ответ	Жива	7.0	Нет
12	Полный ответ	Жива	8.0	Нет
13	Полный ответ	Жива	8.1	Нет
14	Полный ответ	Жива	10.5	Нет
15	Полный ответ	Жива	6.1	Нет
16	Полный ответ	Жива	11.6	Нет
17	Полный ответ	Жива	9.4	Нет
18	Полный ответ	Жива	4.5	Нет
19	Полный ответ	Жива	4.9	Нет
20	Полный ответ	Жива	5.9	Нет
21	Полный ответ	Жива	6.3	Нет
22	Полный ответ	Жива	0.3	Нет

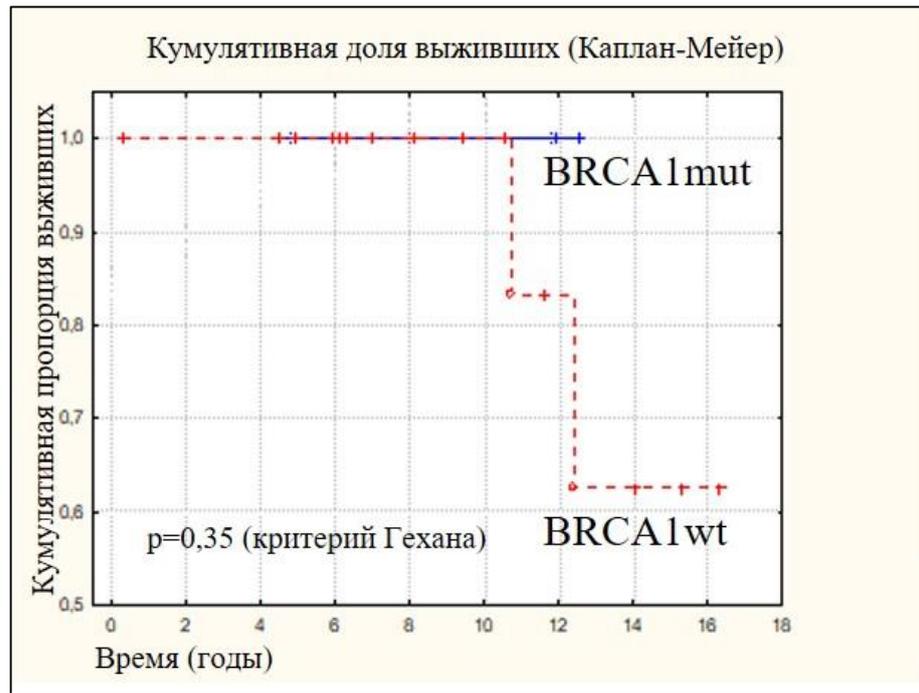


Рис. 38. Общая выживаемость больных BRCA1-ассоциированным и спорадическим РМЖ с ППО после НАХТ

3.2. Рак яичника

Общая клинико-морфологическая характеристика BRCA1-ассоциированных опухолей яичника

Генотипирование 3 фаундер-мутаций (BRCA1 5382insC [с.5266dupC], BRCA1 4153delA [с.4034delA], BRCA1 185delAG [с.68_69delAG]) выполнено у 158 пациенток. Мутация BRCA1 была обнаружена у 29 (18.3%) женщин. Клинико-морфологические характеристики случаев с носительством мутаций и их сравнение с опухолями от пациенток без мутации BRCA1 представлены в табл. 21.

Клинико-морфологическая характеристика больных РЯ, проходивших
НАХТ

Характеристика	Носительницы мутации BRCA1 (n = 29)	Пациентки без мутации (n = 129)	(P)
Возраст (годы)			
Медиана	51	57	0.005
Диапазон	32-74	19-80	
Клиническая стадия по FIGO (n)			
IIA	0	2 (1.5%)	-
IIIC	16 (55%)	83 (64.3%)	0.3986
IV	13 (45%)	44 (34.2%)	0.2915
Мутации			
BRCA1 5382 insC	26 (89.8%)	0	
BRCA1 4153delA	2 (6.8%)	0	
BRCA1 185delAG	1 (3.4%)	0	
Гистологический тип			
Серозный high grade	29 (100%)	122 (94.4%)	
Эндометриоидный	0	3 (2.4%)	
Светлоклеточный	0	1 (0.8%)	
Муцинозный	0	1 (0.8%)	
Смешанный	0	2 (1.6%)	

В исследуемой группе было 29 женщин с мутацией гена BRCA1, средний возраст больных составил 51 лет (от 32 до 74 лет). Для 16 (55%) пациенток клиническая стадия по FIGO была определена как IIIC, у 13 (45%) больных была выявлена IV клиническая стадия по FIGO. У 26 (89.8%) пациенток при

молекулярном тестировании выявлена мутация BRCA1 5382insC, у 2 (6.8%) пациенток – BRCA1 4153delA, и у 1 (3.4%) пациентки – BRCA1 185delAG. Диагноз злокачественного новообразования яичников при гистологическом исследовании удаленного препарата при пангистерэктомии был установлен во всех 29 образцах опухолей, определён гистологический тип опухоли – серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности. В 3 случаях диагноз был подтверждён с помощью дополнительной положительной иммуногистохимической окраски с антителами к WT-1. В предоперационном периоде 17 (59.2%) пациенток получили неoadъювантную платиносодержащую химиотерапию по схеме CP, 4 (13.6%) пациенток – по схеме CAP, 5 (17%) пациенток получали цисплатин в монорежиме, 2 (6,8%) пациенток получали ТСбР, и 1 (3.4%) пациентка получила другую схему платиносодержащей неoadъювантной химиотерапии (CP+CAP). Количество циклов неoadъювантной полихимиотерапии варьировало от 1 до 9, медиана составила 3 цикла (табл. 22).

Таблица 22

Характеристика неoadъювантной химиотерапии больных РЯ

Характеристика	Носительницы мутации BRCA1 (n = 29)	Пациентки без мутации (n = 129)
Химиотерапия (схемы):		
CP	17 (59.2%)	87 (67.6%)
CAP	4 (13.6%)	26 (20.1%)
МХТ (цисплатин)	5 (17%)	0 (0%)
ТСбР	2 (6.8%)	9 (6.9%)
Другие	1 (3.4%)	7 (5.4%)
Количество циклов химиотерапии		
Медиана	3	3
Диапазон	1-9	1-9

В контрольную группу включены 129 женщин без мутаций BRCA1, средний возраст больных составил 57 лет (от 19 до 80 лет). Для 2 (1.5%) пациенток клиническая стадия по FIGO была определена как IIIA, у 16 (55%) больных клиническая стадия по FIGO была определена как IIIC, у 13 (45%) пациенток была выявлена IV клиническая стадия по FIGO. Диагноз злокачественного новообразования яичников при гистологическом исследовании удаленного препарата при пангистерэктомии был установлен во всех 129 образцах опухолей. В 94.4% случаев (122 больных) установлен диагноз серозная карцинома высокой степени злокачественности (рис. 39-40), в 2.4% случаев (3 больных) - эндометриоидная карцинома, в 0.8% случаев (1 больная) – светлоклеточная карцинома (рис. 41-42), в 0.8% случаев (1 больная) – муцинозная карцинома и в 1.6% случаев (2 больных) – карцинома смешанного строения (серозная+муцинозная). В предоперационном периоде 87 (67.6%) пациенток получили неoadъювантную платиносодержащую химиотерапию по схеме CP, 26 (20.1%) пациенток – по схеме CAP, 9 (6.9%) пациенток получали TCbP, 7 (5.4%) пациенток получили иные схемы платиносодержащей неoadъювантной химиотерапии. Количество циклов неoadъювантной полихимиотерапии варьировало от 1 до 9, медиана составила 3 цикла.

Оценка гистопатологического регресса первичной опухоли после НАХТ в BRCA1-ассоциированных и спорадических РЯ

Во всех изучаемых случаях РЯ выполнена оценка гистопатологического регресса по классификации, предложенной Vohm et al. В табл. 18 приведена частота разных степеней ответа опухоли яичника на химиотерапию в группах BRCA1-ассоциированных и спорадических серозных карцином. Образцы иных гистологических типов (эндометриоидная карцинома, муцинозная карцинома, светлоклеточная карцинома, смешанная карцинома) из группы сравнения исключены, поскольку обладают иными клиническими и биологическими характеристиками.

В группе BRCA1-ассоциированных карцином у 4 (13,8%) больных микроскопическая картина была представлена преимущественно полями жизнеспособной опухоли с отсутствием или минимальными фиброзными и воспалительными изменениями, ограниченными небольшими очагами (степень регресса 1). У 15 (51,8%) пациенток микроскопическая картина была представлена полями опухоли с многоочаговыми или диффузными регресс-ассоциированным фиброзно-воспалительными изменениями (степень регресса 2). У 10 (34,4%) больных наблюдались небольшие неравномерно разбросанные опухолевые очаги, представленные отдельными клетками, группами или скоплениями до 2 мм в наибольшем измерении (степень регресса 3). Важно, что в группе умеренной и выраженной степени регресса опухоли яичника (степени 2+3) в совокупности оказались большинство включённых пациенток ($n = 25$, 86,2%).

В группе спорадических карцином в половине случаев – у 57 (46,7%) больных - микроскопическая картина была представлена преимущественно полями жизнеспособной опухоли с отсутствием или минимальными фиброзными и воспалительными изменениями, ограниченными небольшими очагами (степень регресса 1). У 43 (35,3%) женщин была зафиксирована степень регресса 2, и у 22 (18%) – 3-я степень гистопатологического ответа опухоли.

Таким образом, в группе умеренной и выраженной степени регресса опухоли яичника (степени 2+3) в совокупности оказались около половины 53,3% ($n = 65$) пациенток со спорадическим РЯ (табл. 23).

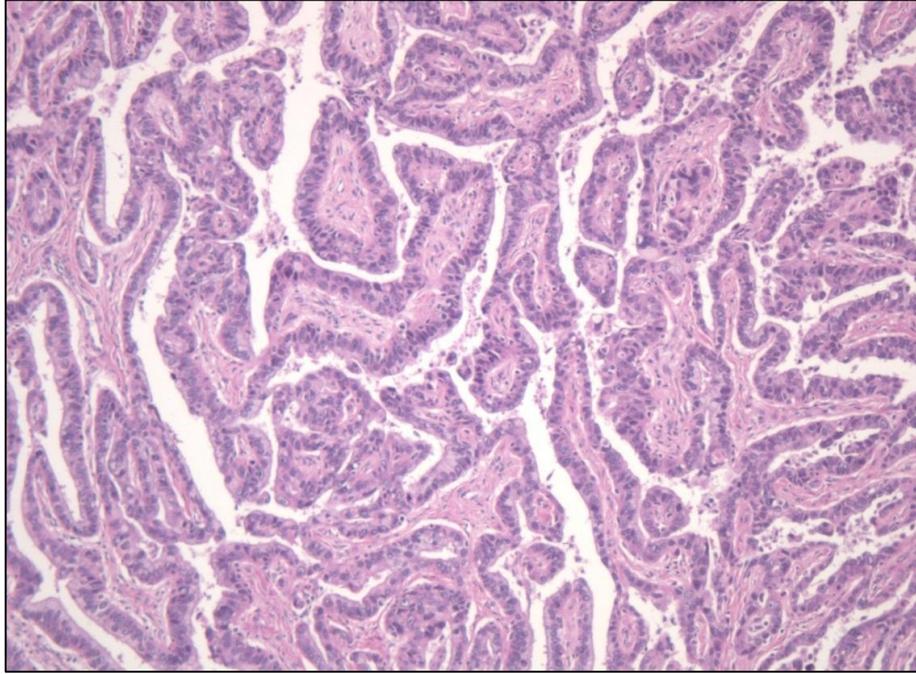


Рис. 39. Серозный рак яичника высокой степени злокачественности, окр. гематоксилином и эозином, x100

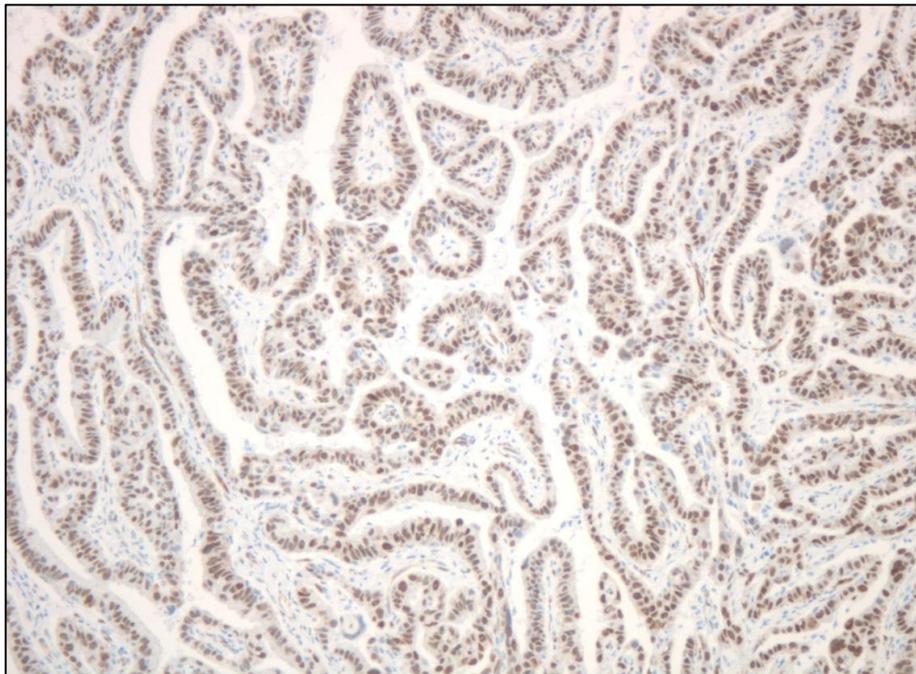


Рис. 40. Серозный рак яичника высокой степени злокачественности, положительная ядерная реакция высокой интенсивности (ИГХ-исследование с антителами к WT1), x100

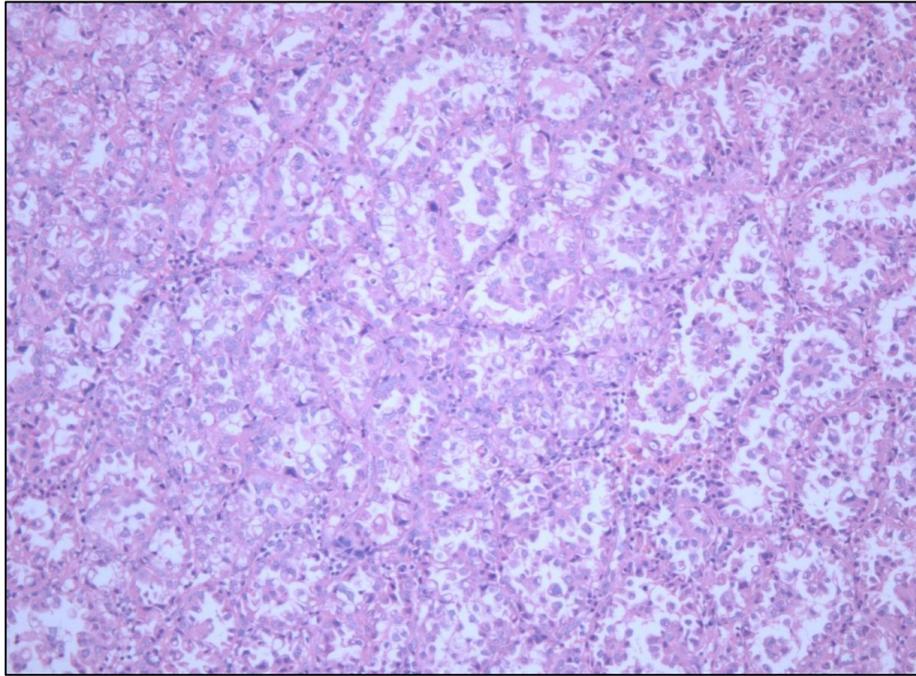


Рис. 41. Светлоклеточный рак яичника, окр. гематоксилином и эозином, x100

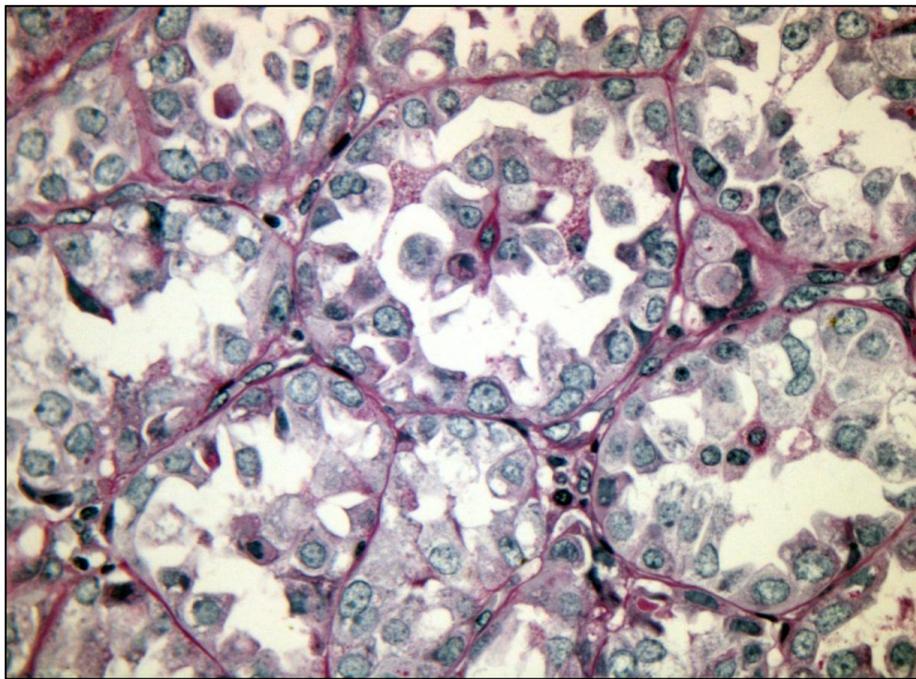


Рис. 42. Светлоклеточный рак яичника, гистохимическая окр. ШИК, x400

Сравнительная оценка частоты разных степеней гистопатологического ответа опухоли яичника на НАХТ в группах BRCA1-ассоциированных серозных РЯ и спорадических серозных РЯ по Böhm

Степень регресса	Носительницы мутации BRCA1	Пациентки без мутации	Значимость (P)
1	4/29 (13.8%)	57/122 (46.7%)	0.0013
2	15/29 (51.8%)	43/122 (35.3%)	0.1365
3	10/29 (34.4%)	22/122 (18%)	0.0745
2+3	25/29 (86.2%)	65/122 (53.3%)	0.0013

Первичный анализ показал, что в целом частота степени регресса 1 опухоли яичника в спорадических карциномах выше, чем в наследственных, (46.7% против 13.8%, $p = 0.0013$). Регресс 2-ой и 3-ей степени встречался чаще в группе BRCA1-ассоциированных опухолей, хотя различия не достигли статистической значимости: частота степени регресса 2 составила в спорадических и наследственных карциномах 35.3% и 51.8%, $p = 0.1365$; степени регресса 3 - 18% и 34.4%, $p = 0.0745$ соответственно. В то же время, суммарное количество умеренных и выраженных гистопатологических ответов 2 и 3 степени в группе BRCA1-ассоциированных карцином оказалось достоверно выше по сравнению со спорадическими, 86.2% против 53.3%, $p = 0.0013$ (рис. 43-45).

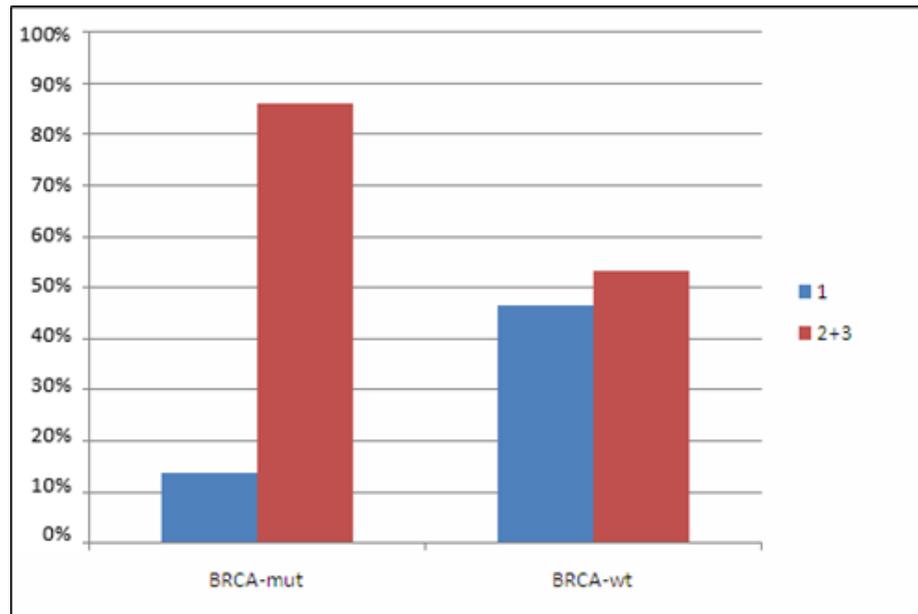


Рис. 43. Суммарная частота умеренной и выраженной степени гистопатологического ответа (2+3) опухоли яичника на НАХТ в группах BRCA1-ассоциированных (BRCA-mut) серозных РЯ и спорадических (BRCA-wt) серозных РЯ по Böhm et al.

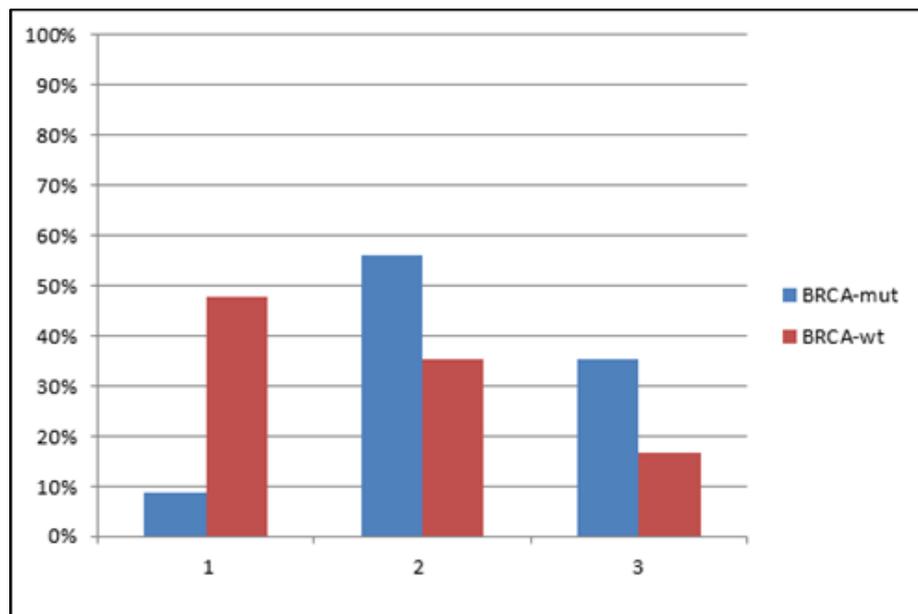


Рис. 44. Частота трёх степеней гистопатологического ответа опухоли яичника на НАХТ в группах BRCA1-ассоциированных (BRCA-mut) серозных РЯ и спорадических (BRCA-wt) серозных РЯ по Böhm et al.

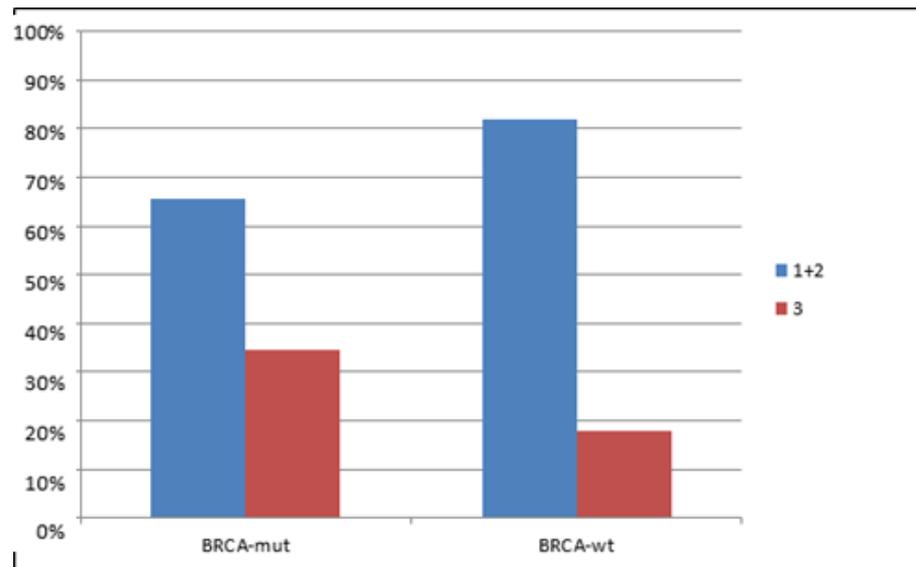


Рис. 45. Суммарная частота минимальной и умеренной степени гистопатологического ответа (1+2) опухоли яичника на НАХТ в группах BRCA1-ассоциированных серозных РЯ и спорадических серозных РЯ по Böhm et al.

Анализ длительности бесплатинового интервала в зависимости от степени гистопатологического регресса первичной опухоли в группах BRCA1-ассоциированных и спорадических РЯ

Следующим этапом работы стал сравнительный анализ длительности бесплатинового интервала в наследственных и спорадических опухолях. Для этого из анализируемой выборки были выделены 2 группы наследственных и спорадических карцином, критериями включения в которые являлись наличие сведений о длительности бесплатинового интервала и выполнение оптимальной циторедуктивной пангистерэктомии.

В группе наследственных карцином указанным критериям соответствовали 19 из 29 больных, а в группе спорадических - 31 больная. Исключение из анализа больных с неоптимальным или субоптимальным объёмом циторедукции необходимо, поскольку наличие видимых, неудаляемых по объективным причинам остаточных опухолевых масс в брюшной полости может оказывать непосредственное влияние на длительность бесплатинового интервала.

В табл. 24 приведены сведения о длительности бесплатинового интервала в группах оптимально прооперированных наследственных и спорадических опухолей в зависимости от степени регресса первичной опухоли после НАХТ.

В целом, медиана длительности бесплатинового интервала в группе оптимально прооперированных BRCA1-ассоциированных опухолей составила 12.4 (1-81.5) мес., что существенно выше, чем в группе оптимально прооперированных спорадических опухолей – 5.6 (0.0-112.9) мес., но различия не достигли статистической значимости, $p = 0.067$.

Медиана длительности бесплатинового интервала в группе спорадических опухолей со степенью регресса 1 первичной опухоли составила 5.8 мес., диапазон варьировал от 3.1 до 40.5 мес. (рис. 46-47). Важно, что в группе оптимально прооперированных наследственных опухолей степень регресса 1 первичной опухоли не встречалась, что свидетельствует об особой чувствительности РЯ к платиносодержащей цитостатической терапии.

Среди опухолей со степенью регресса 2 после НАХТ (рис. 48-49), медианы бесплатинового интервала достоверно не отличались в группах спорадических (7.8 мес.; диапазон 0.4-112.9 мес.) и наследственных карцином (14.7 мес.; диапазон 1-52.5 мес.) ($p = 0,242$). В опухолях со степенью регресса 3 (рис. 50) длительность бесплатинового интервала была достоверно выше среди BRCA1-ассоциированных по сравнению со спорадическими карциномами (медиана бесплатинового интервала составила 11.25 (2.9-81.5) и 2.4 (0.0-18) мес. соответственно, $p = 0.049$). При объединении случаев с умеренной и выраженной степенью регресса (2+3) в одну группу отличия между спорадическими и наследственными РЯ также оказывались существенными: медиана длительности бесплатинового интервала у женщин без мутаций составила 4.1 (0.0-112.9) мес., а у пациенток-носительниц мутаций BRCA1 – 12.4 (1-81.5) мес., $p = 0.025$.

Бесплатиновый интервал в группе оптимально прооперированных BRCA1-ассоциированных РЯ со степенью регресса первичной опухоли 2 статистически достоверно не отличался от опухолей со степенью регресса 3 ($p = 0.859$).

Медиана и диапазон длительности бесплатинового интервала в группах оптимально прооперированных BRCA1+ РЯ и BRCA1- РЯ в зависимости от степени ответа первичной опухоли по Böhm et al.

Степень регресса	Носительницы мутации BRCA1 (медиана, диапазон, мес.)	Пациентки без мутации (медиана, диапазон, мес.)	Значимость (P)
1	0	5.8 (3.1-40.5) (n = 12)	-
2	14.7 (1-52.5) (n = 11)	7.8 (0.4-112.9) (n = 12)	0.242
3	11.25 (2.9-81.5) (n = 8)	2.4 (0.0-18) (n = 7)	0.049
2+3	12.4 (1-81.5) (n = 19)	4.1 (0.0-112.9) (n = 19)	0.025
1+2+3	12.4 (1-81.5)(n = 19)	5.6 (0.0-112.9) (n = 31)	0.067

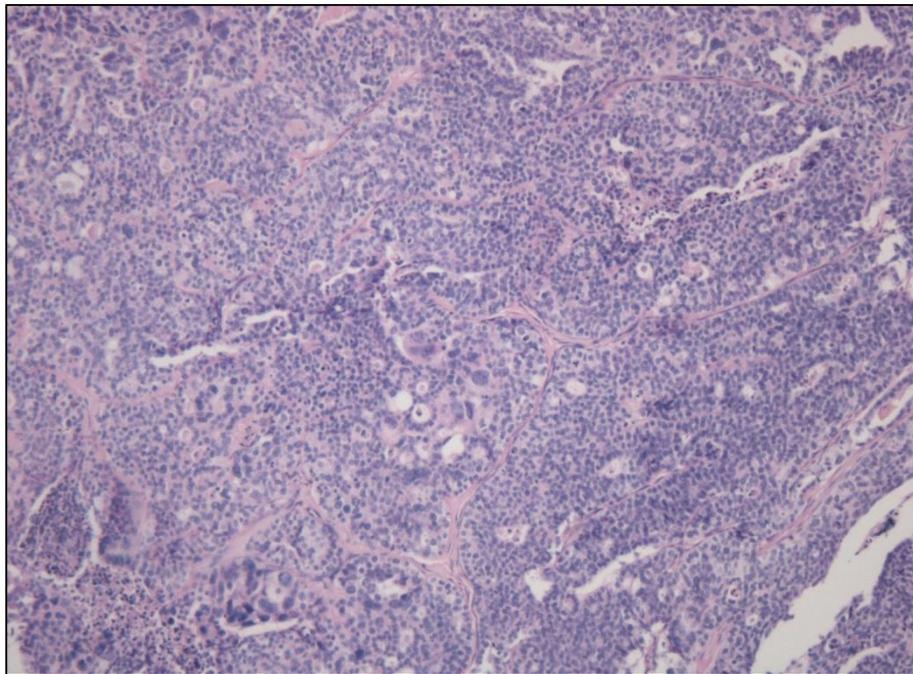


Рис. 46. Спорадическая серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности после НАХТ, степень гистопатологического ответа 1, окр. гематоксилином и эозином, х50

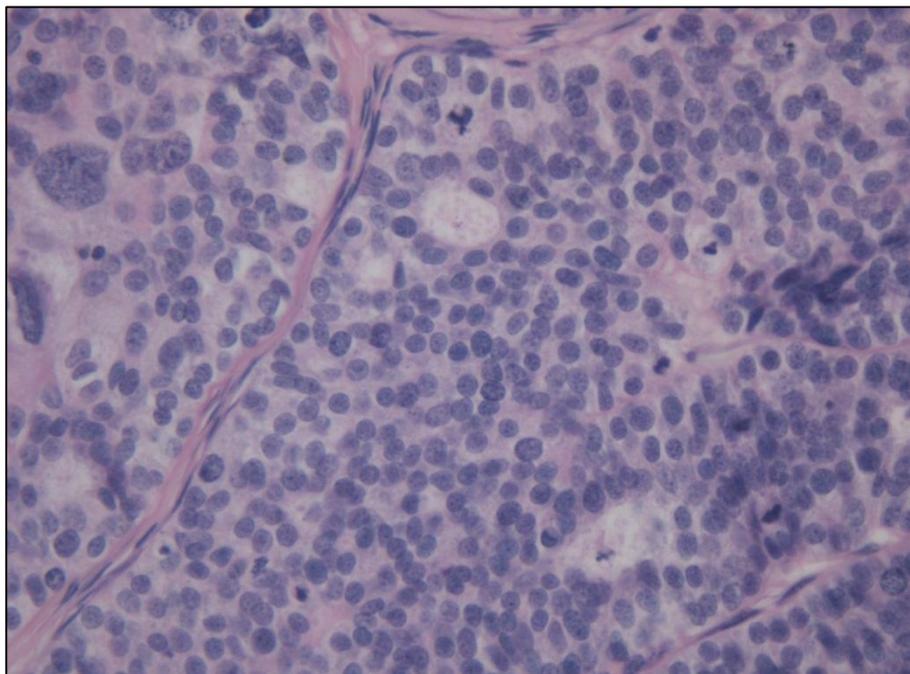


Рис. 47. Спорадическая серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности после НАХТ, степень гистопатологического ответа 1, выраженный полиморфизм ядер клеток, патологические митозы, окр. гематоксилином и эозином, х400

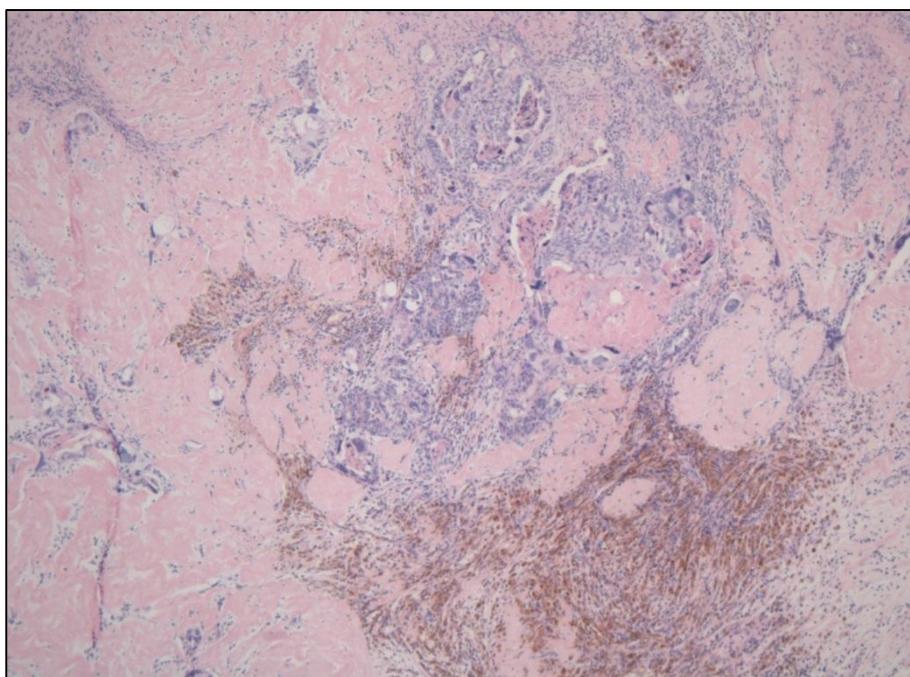


Рис. 48. BRCA1-ассоциированная серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности после НАХТ, степень гистопатологического ответа 2, окр. гематоксилином и эозином, х50

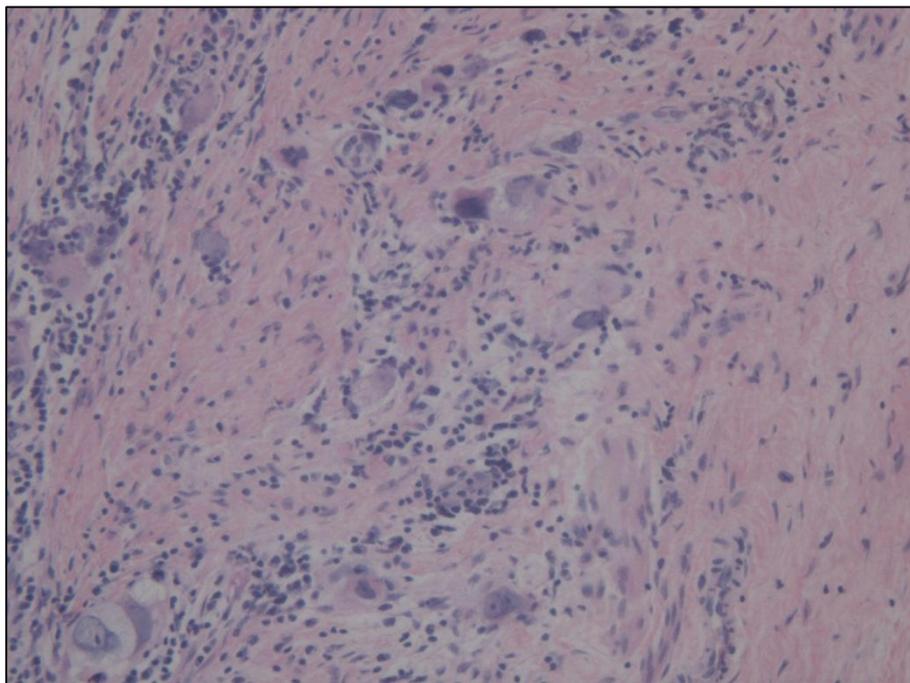


Рис. 49. BRCA1-ассоциированная серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности после НАХТ, степень гистопатологического ответа 2, окр. гематоксилином и эозином, x400

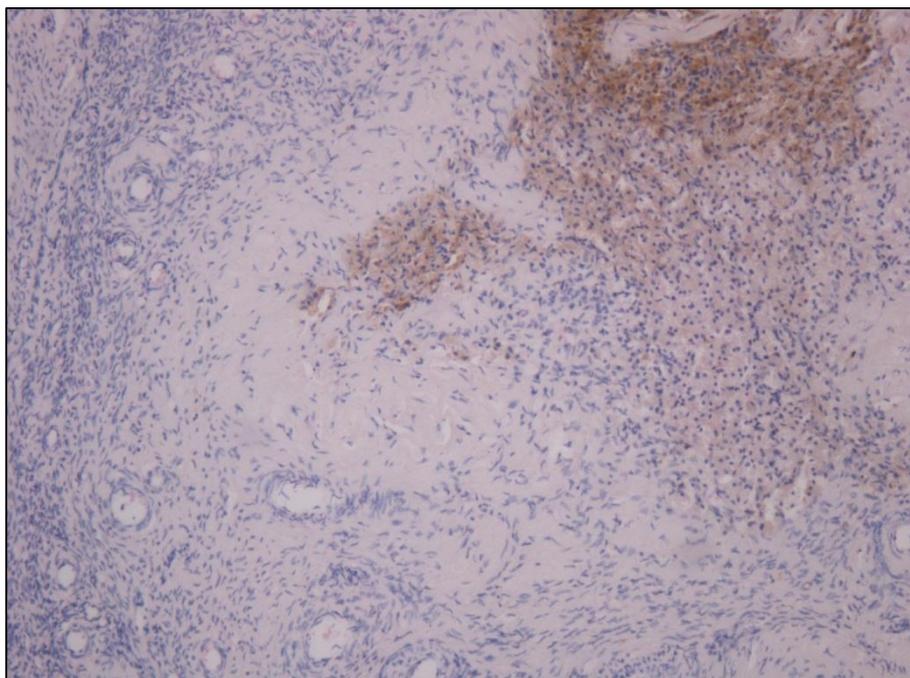


Рис. 50. BRCA1-ассоциированная серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности после НАХТ, степень гистопатологического ответа 3, опухолевые клетки отсутствуют, окр. гематоксилином и эозином, x100

Сведения о медиане длительности бесплатинового интервала во всех проанализированных оптимально прооперированных РЯ (без подразделения на

BRCA1-ассоциированные и спорадические случаи) в зависимости от степени регресса первичной опухоли представлены в табл. 25. В опухолях со степенью регресса 1 она составила 5.8 (диапазон: 3.1-40.5) мес., со степенью регресса 2 – 8.6 (диапазон: 0.4-112.9) мес., со степенью регресса 3 – 6.9 (диапазон: 0.0-81.5) мес., а в группе умеренных и выраженных ответов – 7.8 (диапазон: 0.0-112.9) мес. Существенных отличий между группами выявлено не было (табл. 26).

Таблица 25

Длительность бесплатинового интервала в оптимально прооперированных РЯ в зависимости от степени регресса первичной опухоли по Böhm et al. (вся исследуемая группа РЯ)

Степень регресса	Медиана, диапазон, месяцы
1 (n = 12)	5.8 (3.1-40.5)
2 (n = 23)	8.6 (0.4-112.9)
3 (n = 15)	6.9 (0.0-81.5)
2+3 (n = 38)	7.8 (0.0-112.9)

Таблица 26

Сравнительная оценка длительности бесплатинового интервала в оптимально прооперированных группах РЯ в зависимости от степени регресса первичной опухоли по Böhm et al. (вся исследуемая группа РЯ)

Степень регресса	1	2	3	2+3	1+2
1	x	0.808	0.526	0.650	x
2	x	x	0.611	x	x
3	x	x	x	x	0.525

Среди оптимально прооперированных больных с мутацией в гене BRCA1 продолжительность бесплатинового интервала менее 6 мес. встречалась в 31.5% (n = 6), в то время как в группе оптимально прооперированных спорадических

больных - несколько чаще, в 51.6% (n = 16), однако статистически достоверного различия не было выявлено, $p = 0.242$. Продолжительность бесплатинового интервала более 6 месяцев наблюдалась в 68.5% случаев (n = 13) при BRCA1-ассоциированном, и в 48.4% (n = 15) при спорадическом РЯ, $p = 0.242$. Длительность бесплатинового интервала более 12 мес. также чаще наблюдалась при наследственном (52.6%, n = 10), чем при ненаследственном РЯ (25.8%, n = 8), $p = 0.073$. Статистически достоверными оказались отличия в количестве больных с бесплатиновым интервалом более 24 месяцев: их доля составила 36.8% (n = 7) среди больных с мутацией в гене BRCA1 и 9.6% (n = 3) – в группе пациенток без мутаций, $p = 0.00255$ (табл. 27).

Таблица 27

Оценка длительности бесплатинового интервала в оптимально прооперированных группах BRCA1-ассоциированных РЯ и спорадических РЯ

Длительность	Носительницы мутации BRCA1	Пациентки без мутации	Значимость (P)
< 6 месяцев	6/19 (31.5%)	16/31 (51.6%)	0.242
> 6 месяцев	13/19 (68.5%)	15/31 (48.4%)	0.242
> 12 месяцев	10/19 (52.6%)	8/31 (25.8%)	0.073
> 24 месяцев	7/19 (36.8%)	3/31 (9.6%)	0.0255

Анализ ассоциаций между степенью регресса метастазов сальника и длительностью бесплатинового интервала в группах BRCA1-ассоциированных и спорадических РЯ

Важным этапом исследования являлся анализ прогностической значимости определения степени регресса метастазов сальника при BRCA1-ассоциированных РЯ. Сведения о длительности бесплатинового интервала в группе оптимально прооперированных наследственных и спорадических опухолей в зависимости от степени регресса метастазов сальника после НАХТ представлены в табл. 28.

В целом, продолжительность бесплатинового интервала в группе оптимально прооперированных BRCA1-ассоциированных опухолей была статистически достоверно выше, чем в спорадических опухолях: медиана составила 9.65 мес. против 5.6 мес. соответственно, $p = 0.049$.

Бесплатиновый интервал не отличался в спорадических и наследственных опухолях со степенью регресса 1 метастазов сальника: медиана интервала в этих группах составила 4.6 и 2.85 мес. соответственно, $p = 1.00$. Среди опухолей со 2-ой степенью регресса продолжительность бесплатинового интервала оказалась значительно больше в наследственных по сравнению с ненаследственными РЯ: медиана показателя в этих группах составила 22.3 мес. против 4.0 мес. соответственно, $p = 0.009$. Количество опухолей со степенью регресса 3 оказалось недостаточным для статистического анализа: в двух наблюдаемых спорадических РЯ бесплатиновый интервал составил 11.1 и 31.4 мес., тогда как в трёх BRCA1-ассоциированных карциномах – 6.7, 6.9 и 38.4 мес. При объединении опухолей со степенью регресса 2 и 3 между наследственными и спорадическими РЯ сохранялось достоверное отличие: медиана бесплатинового интервала составила 5.1 мес. у женщин без мутаций и 18.6 мес. у пациенток с мутациями BRCA1, $p = 0.019$.

Медиана и диапазон бесплатинового интервала в группах оптимально прооперированных BRCA1-ассоциированных РЯ и спорадических РЯ в зависимости от степени ответа метастазов сальника по Böhm et al.

Степень регресса	Носительницы мутации BRCA1 (медиана, диапазон, месяцы)	Пациентки без мутации (медиана, диапазон, месяцы)	Значимость (P)
1	2.85 (1-12.4) (n=4)	4.6 (0.0-8.6) (n=8)	1.00
2	22.3 (3.8-52.5) (n=7)	4.0 (1.0-15.0) (n=16)	0.009
3	6.9 (6.7-38.4) (n=3)	11.1-31.4 (n=2)	-
2+3	18.6 (3.8-52.5) (n=10)	5.1 (1.0-31.4) (n=18)	0.019
1+2+3	9.65 (1-52.5) (n=14)	5.6 (0.0-112.9) (n=26)	0.049

Зависимость длительности бесплатинового интервала от степени регресса метастазов сальника оценивалась во всей анализируемой группе РЯ (без подразделения на BRCA1-позитивные и –негативные случаи), а также по отдельности среди BRCA1-ассоциированных и спорадических карцином.

Медианы длительности бесплатинового интервала во всех оптимально прооперированных РЯ (без учёта BRCA1-статуса) в зависимости от степени регресса метастазов сальника приведены в табл. 29.

Среди оптимально прооперированных РЯ со степенью регресса 1 метастазов сальника медиана длительности бесплатинового интервала составила 3.5 (диапазон: 0.0-12.4) мес., со степенью регресса 2 – 6.0 (диапазон: 1.0-52.5) мес., со степенью регресса 3 – 11.1 (диапазон: 6.7-38.4) мес., а в группе умеренных и выраженных ответов – 7.5 (диапазон: 1.0-52.5) мес. Наиболее

значимыми оказались отличия продолжительности бесплатинового интервала у больных РЯ с выраженным регрессом (3 степень) метастазов сальника по сравнению с пациентками, у которых наблюдался минимальный регресс (1 степень): 11.1 против 3.5 мес., $p = 0.008$ (рис. 51-56, табл. 30). При объединении РЯ с умеренным и выраженным регрессом (2+3) в одну группу они также достоверно отличались от случаев с минимальным регрессом, $p = 0.022$.

Таблица 29

Длительность бесплатинового интервала в оптимально прооперированных РЯ в зависимости от степени регресса метастазов сальника по Vöhm et al. (вся исследуемая группа РЯ)

Степень регресса	Медиана (диапазон), месяцы
1 (n = 12)	3.5 (0.0-12.4)
2 (n = 23)	6.0 (1.0-52.5)
3 (n = 5)	11.1 (6.7-38.4)
2+3 (n = 28)	7.5 (1.0-52.5)

Таблица 30

Сравнительная оценка длительности бесплатинового интервала в оптимально прооперированных РЯ в зависимости от степени регресса метастазов сальника по Vöhm et al. (вся исследуемая группа РЯ)

Степень регресса	1	2	3	2+3	1+2
1	x	0.068	0.008	0.022	x
2	x	x	0.133	x	x
3	x	x	x	x	0.041

Результаты сравнения длительности бесплатинового интервала в зависимости от степени регресса метастазов сальника в группе оптимально прооперированных BRCA1-ассоциированных опухолей представлены в табл. 31.

Достоверные отличия были обнаружены при сравнении случаев с низким (степень 1) и умеренным (степень 2) гистопатологическим ответом ($p = 0.023$), а также при сопоставлении РЯ с низким (степень 1) и умеренным или выраженным (степень 2+3) регрессом метастазов сальника ($p = 0.024$). Большим степеням регресса (2, 2+3) соответствовал более длительный бесплатиновый интервал (табл. 28).

В оптимально прооперированных спорадических опухолях ассоциации между длительностью бесплатинового интервала и степенью регресса метастазов сальника обнаружить не удалось. В случаях с низким (степень 1) и умеренным (степень 2) регрессом длительность бесплатинового интервала была приблизительно одинаковой: 4.6 против 4.0 мес. ($p = 0.391$). Аналогичная тенденция наблюдалась при сопоставлении РЯ с низким (степень 1) и умеренным или выраженным (степень 2+3) регрессом метастазов сальника: продолжительность бесплатинового интервала составила 4.6 против 5.1 мес. ($p = 0.221$). Небольшое количество наблюдений со степенью регресса 3 ($n = 2$) в группе спорадических РЯ не позволило провести статистическое сравнение с аналогичными группами регресса 1 и 2. Тем не менее, оба случая спорадического РЯ с выраженным регрессом отличались высокой продолжительностью бесплатинового интервала (11.1 и 31.4 мес.), что даёт основания предполагать наличие связи между длительностью бесплатинового интервала и степенью регресса метастазов сальника и при ненаследственном серозном РЯ.

Сравнительная оценка длительности бесплатинового интервала в группах оптимально прооперированных BRCA1-ассоциированных РЯ в зависимости от степени ответа метастазов сальника по Böhm et al.

Степень регресса	1	2	3	2+3	1+2
1	x	0.023	0.157	0.024	x
2	x	x	0.909	x	x
3	x	x	x	x	0.586



Рис. 51. Метастаз BRCA1-ассоциированной серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности после НАХТ в большой сальник, степень гистопатологического ответа 1, окр. гематоксилин и эозином, x100

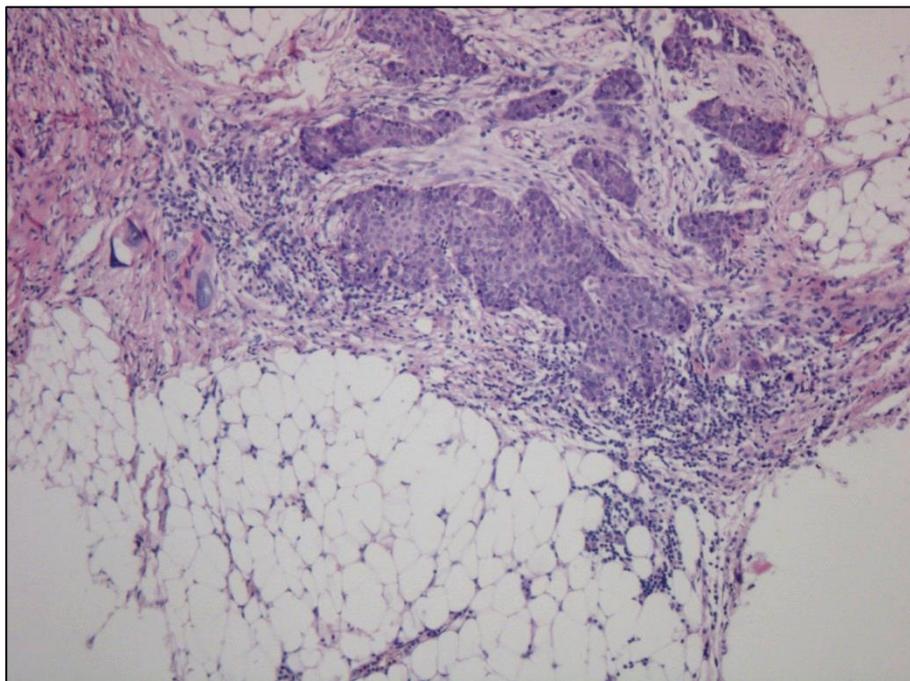


Рис. 52. Метастаз BRCA1-ассоциированной серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности после НАХТ в большой сальник, степень гистопатологического ответа 2, окр. гематоксилином и эозином, x100

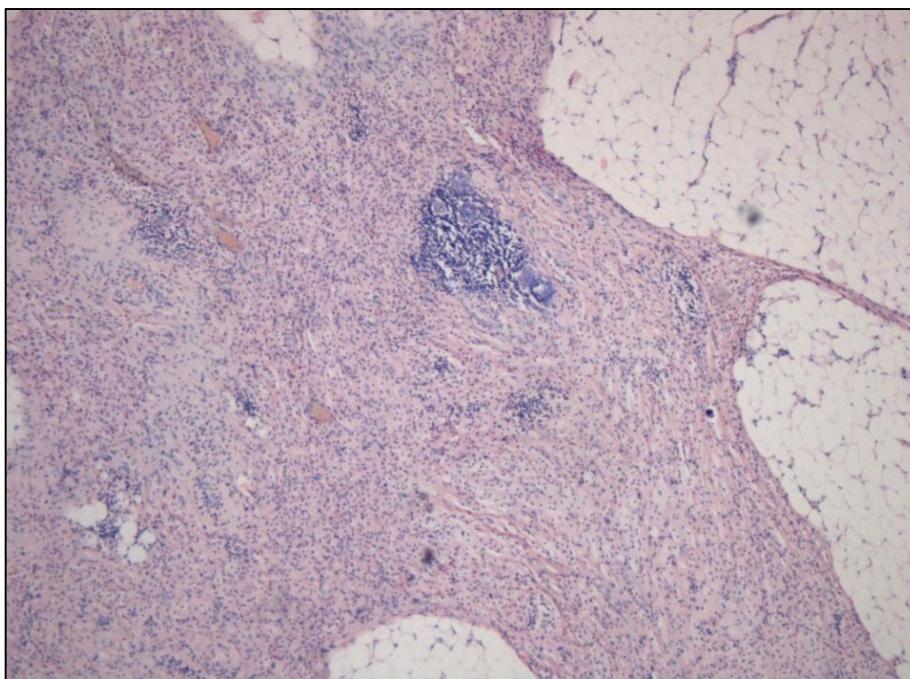


Рис. 53. Метастаз BRCA1-ассоциированной серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности после НАХТ в большой сальник, степень гистопатологического ответа 3, единичное скопление опухолевых клеток, окр гематоксилин и эозином, x50

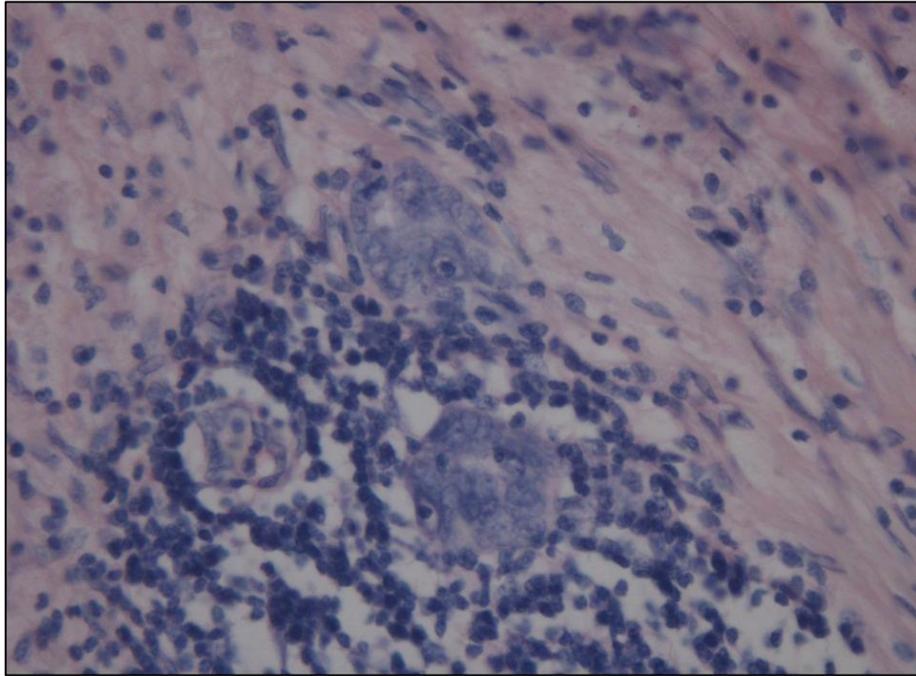


Рис. 54. Метастаз BRCA1-ассоциированной серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности после НАХТ в большой сальник, степень гистопатологического ответа 3, единичное скопление опухолевых клеток, окр. гематоксилином и эозином, x400

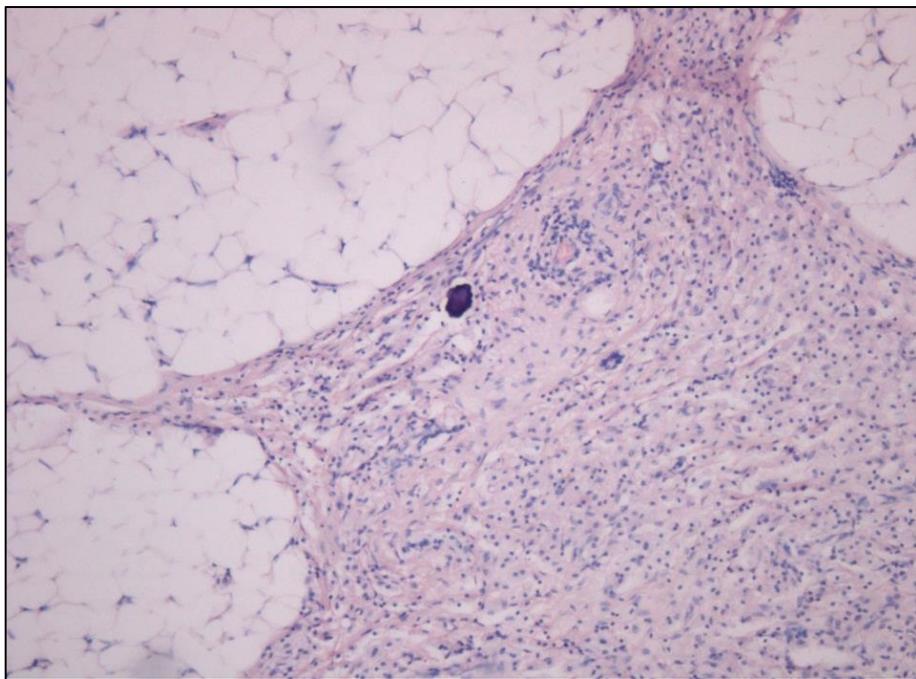


Рис. 55. Метастаз BRCA1-ассоциированной серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности после НАХТ в большой сальник, степень гистопатологического ответа 3, единичное псаммомное тельце, окр. гематоксилином и эозином, x100

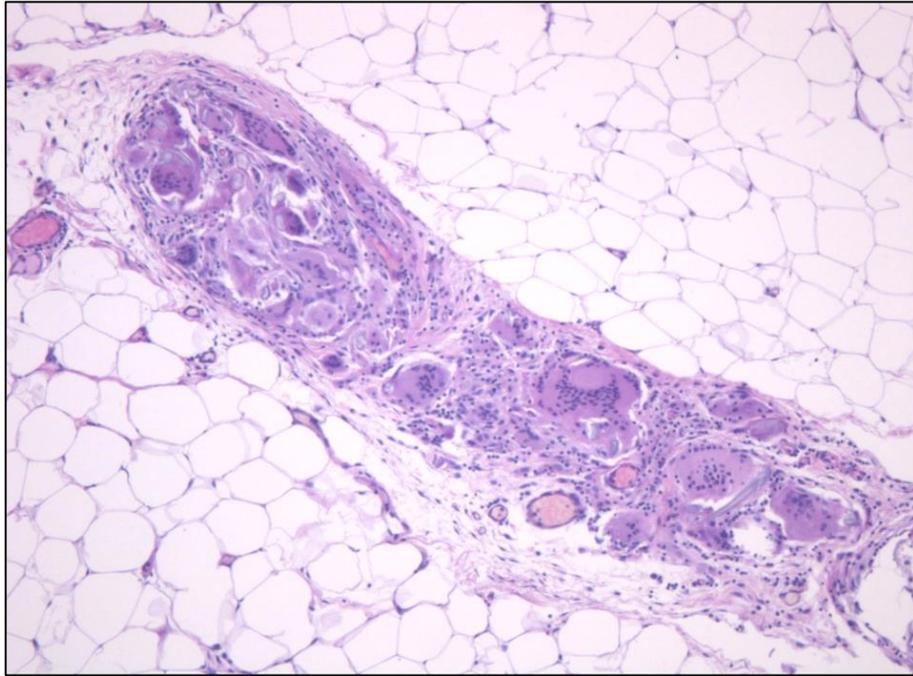


Рис. 56. Метастаз BRCA1-ассоциированной серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности после НАХТ в большой сальник, степень гистопатологического ответа 3, гигантские многоядерные клетки, окр. гематоксилином и эозином, x100

Изменение соматического статуса гена BRCA1 в процессе неoadьювантной химиотерапии

У 23 пациенток с BRCA1-ассоциированным РЯ был получен материал опухоли до (цитологические препараты) и после НАХТ (операционный материал). В 74% (17/23) опухолевых образцов до НАХТ была отмечена потеря аллеля дикого типа (LOH, loss of heterozygosity) (рис. 57). В парных образцах опухоли после НАХТ в 11/17 (65%) случаев установлено восстановление копии гена BRCA1 дикого типа (табл. 32). Восстановление гетерозиготности гена BRCA1 может быть объяснено быстрой селекцией предсуществующих BRCA1-профицитных опухолевых клонов под избирательным воздействием платины.

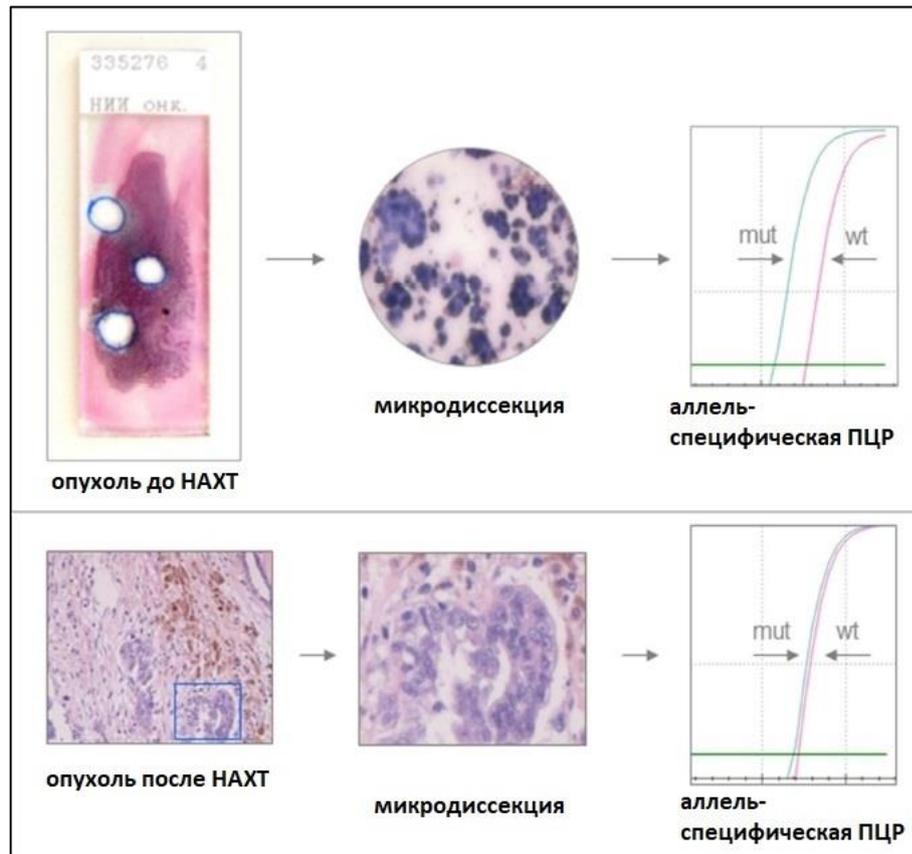


Рис. 57. Образец хемонаивной опухоли демонстрирует соматическую потерю аллеля дикого типа BRCA1 (вверху); опухолевые клетки, удаленные после терапии на основе платины, показывают восстановление нормальной копии гена BRCA1 (внизу).

Таблица 32

Статус LOH в BRCA1-ассоциированных РЯ до и после НАХТ

Номер пациентки	Мутация BRCA1	TNM	Гистологический тип	НАХТ (циклы)	LOH статус до НАХТ	LOH статус после НАХТ	Восстановление гетерозиготности BRCA1
1	5382insC	T3cNxM0	Серозная карцинома	CP (1), TP (1), CP (1), CCbP (1)	LOH	Нет LOH	Да
2	4153delA	T3cNxM1	Серозная карцинома	TCbP (3)	LOH	Нет LOH	Да
3	5382insC	T3cNxM0	Серозная карцинома	CP (3)	LOH	Нет LOH	Да

Номер пациентки	Мутация BRCA1	TNM	Гистологический тип	НАХТ (циклы)	LOH статус до НАХТ	LOH статус после НАХТ	Восстановление гетерозиготности BRCA1
4	5382insC	T3cNxM0	Серозная карцинома	TP (6)	LOH	Нет LOH	Да
5	5382insC	T3cNxM1	Серозная карцинома	CP (9)	LOH	Нет LOH	Да
6	5382insC	T3cNxM1	Серозная карцинома	P + mitomycin (3)	LOH	Нет LOH	Да
7	5382insC	T3cNxM0	Серозная карцинома	CP (3)	LOH	Нет LOH	Да
8	5382insC	T3cNxM0	Серозная карцинома	EC (1) TCbP (1)	LOH	Нет LOH	Да
9	4153delA	T3cNxM1	Серозная карцинома	CP (2) + P (6)	LOH	Нет LOH	Да
10	5382insC	T3cNxM0	Серозная карцинома	CP (1), CCbP (1)	LOH	Нет LOH	Да
11	C61G	T3cNxM0	Серозная карцинома	CP (1), CCbP (1)	LOH	Нет LOH	Да
12	5382insC	T3cNxM1	Серозная карцинома	TCbP (4)	LOH	LOH	Нет
13	4153delA	T3cNxM0	Серозная карцинома	CP (3)	LOH	LOH	Нет
14	5382insC	T3cNxM0	Серозная карцинома	TP (1) CP (1)	LOH	LOH	Нет
15	C61G	T3cNxM0	Серозная карцинома	CCbP (1)	LOH	LOH	Нет
16	5382insC	T3cNxM0	Серозная карцинома	TP (1)	LOH	LOH	Нет
17	5382insC	T3cNxM0	Серозная карцинома	CAP (1) topotecan (2)	LOH	LOH	Нет

3.3. Рак желудка

Общая клинико-морфологическая характеристика BRCA1-ассоциированных опухолей желудка

Проведен анализ наличия мутации в гене BRCA1 5382insC в образцах нормальной ткани 65 больных раком желудка. В исследуемой группе было обнаружено 2 (3%) случая носительства мутации. В обоих образцах опухолевой ткани отмечена потеря аллеля дикого типа (рис. 58).

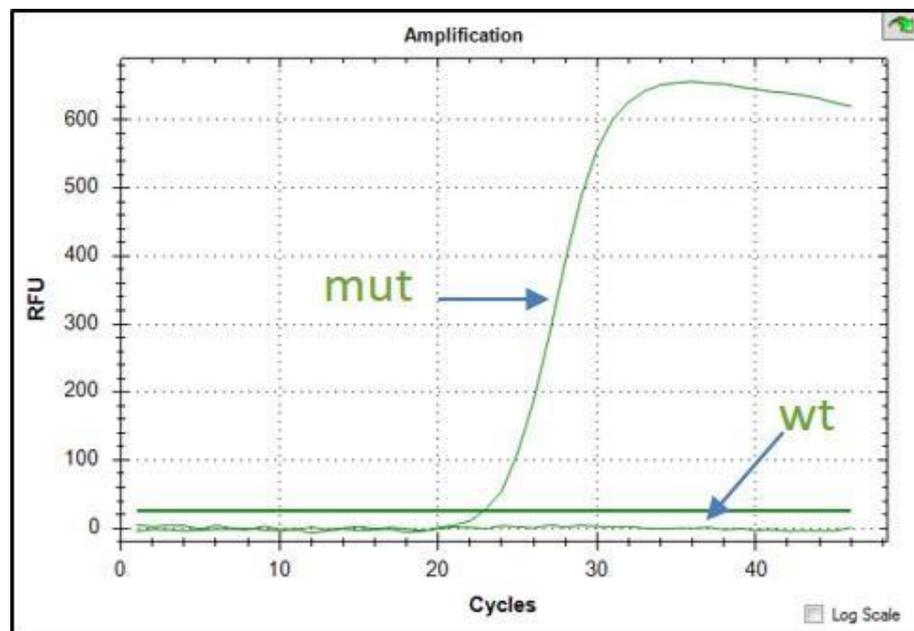


Рис. 58. Кривые амплификации образца с мутацией BRCA1 и потерей аллеля дикого типа (аллель-специфическая ПЦР)

Клинико-морфологическая характеристика исследуемых опухолей желудка

В исследуемой группе было 38 мужчин и 27 женщин, средний возраст больных составил 58 лет (от 35 до 78 лет). У 24 (36.9%) больных первично был диагностирован операбельный рак желудка и проведено радикальное хирургическое лечение. Лишь у 2 (3.1%) пациентов отсутствовали метастазы, в то

время как у 25 (38.5%) больных были поражены метастазами 1 анатомическая зона, у 29 (44.6%) – 2, у 8 (12.3%) – 3, у 1 (1.5%) – 4. Метастатическое поражение печени было отмечено у 19 (29.2%) больных.

Клинические характеристики анализируемой выборки больных представлены в табл. 33.

В 18.5% случаев (12 больных) опухоль локализовалась в кардиоэзофагеальной зоне желудка, в 7.7% (5 больных) – на дне желудка, в 49.2% (32 больных) – в теле желудка, в 12.3% (8 больных) – в выходном отделе желудка; в 12.3% случаев (8 больных) – клинические данные о локализации первичной опухоли желудка отсутствовали. По данным гистологического исследования у всех больных подтверждены опухоли желудка железистого происхождения. В исследуемой группе аденокарциномы низкой степени дифференцировки верифицированы у 67.7% (n = 44) больных, умеренно- и высокодифференцированные аденокарциномы – у 13.8% (n = 9) больных и 9.2% (n = 6) больных соответственно (рис. 59-61). У 64.6% (n = 42) больных строение опухоли в пределах исследованного материала соответствовало диффузному типу опухоли по Lauren, в 13.8% (n = 9) – кишечному типу опухоли по Lauren, у 10.8% (n = 7) больных в опухоли встречались участки диффузного и кишечного типа по Lauren. В 10.8% случаев (7 больных) микропрепараты были возвращены на руки пациентам и были недоступны для повторного микроскопического исследования (табл. 34).

Таблица 33

Клинические характеристики исследуемой выборки больных

Характеристики	Исследуемая группа в целом (n=65)
Пол	
Мужчины	38 (58.5%)
Женщины	27 (41.5%)
Возраст	
Диапазон	35 - 78

Характеристики	Исследуемая группа в целом (n=65)
Медиана	58
Радикальная операция ранее	
Да	24 (36.9%)
Нет	41 (63.1%)
Количество пораженных метастазами локализаций	
0	2 (3.1%)
1	25 (38.5%)
2	29 (44.6%)
3	8 (12.3%)
4	1 (1.5%)
Метастатическое поражение печени	
Да	19 (29.2%)
Нет	46 (70.8%)

Таблица 34

Морфологические характеристики исследуемой выборки больных

Характеристики	Исследуемая группа в целом (n=65)
Локализация первичной опухоли	
Кардио-эзофагеальная зона	12 (18.5%)
Дно желудка	5 (7.7%)
Тело желудка	32 (49.2%)
Выходной отдел	8 (12.3%)
Неизвестно	8 (12.3%)
Степень дифференцировки опухоли	
Высокая	6 (9.2%)
Умеренная	9 (13.8%)
Низкая*	44 (67.7%)

Не классифицирована	6 (9.2%)
Тип опухоли по Lauren	
Диффузный	42 (64.6%)
Кишечный	9 (13.8%)
Смешанный	7 (10.8%)
Неизвестно	7 (10.8%)

* включая перстневидноклеточный рак

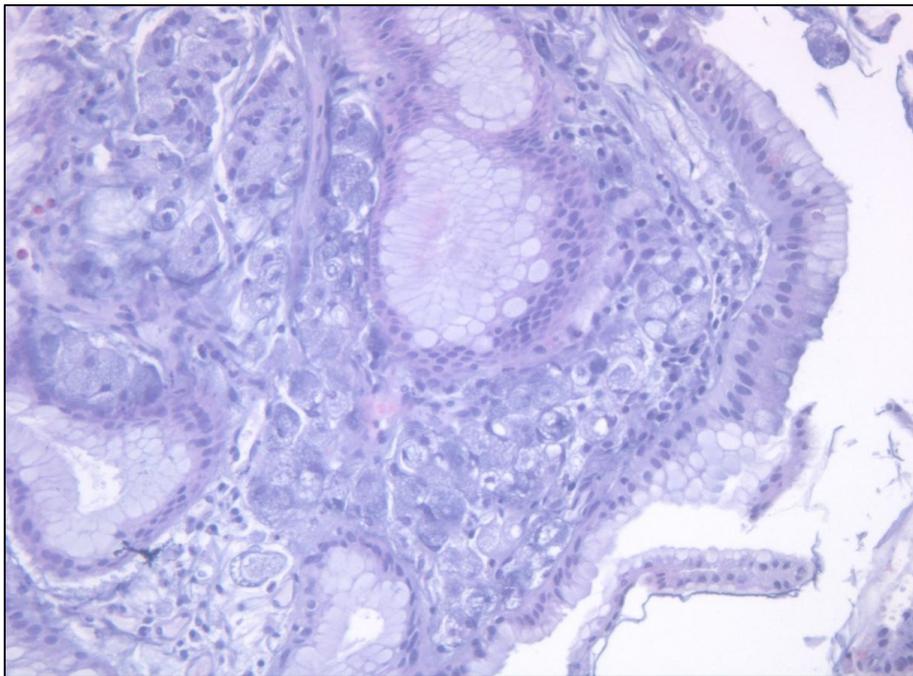


Рис. 59. Рак желудка, Диффузный тип по Lauren, окр. гематоксилином и эозином, x100

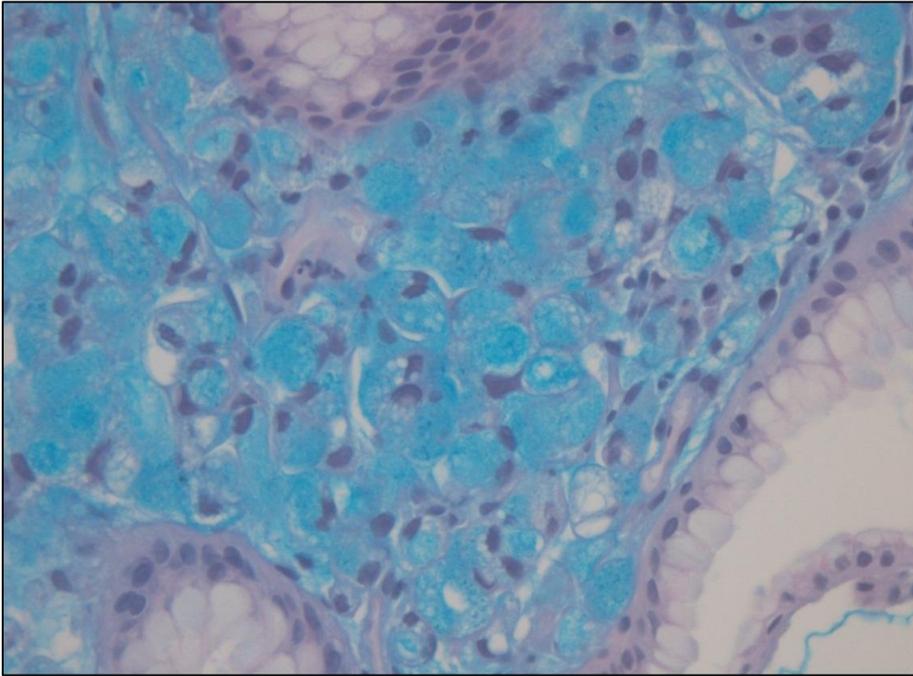


Рис. 60. Рак желудка, диффузный тип по Lauren, окраска альциановый синий, x400

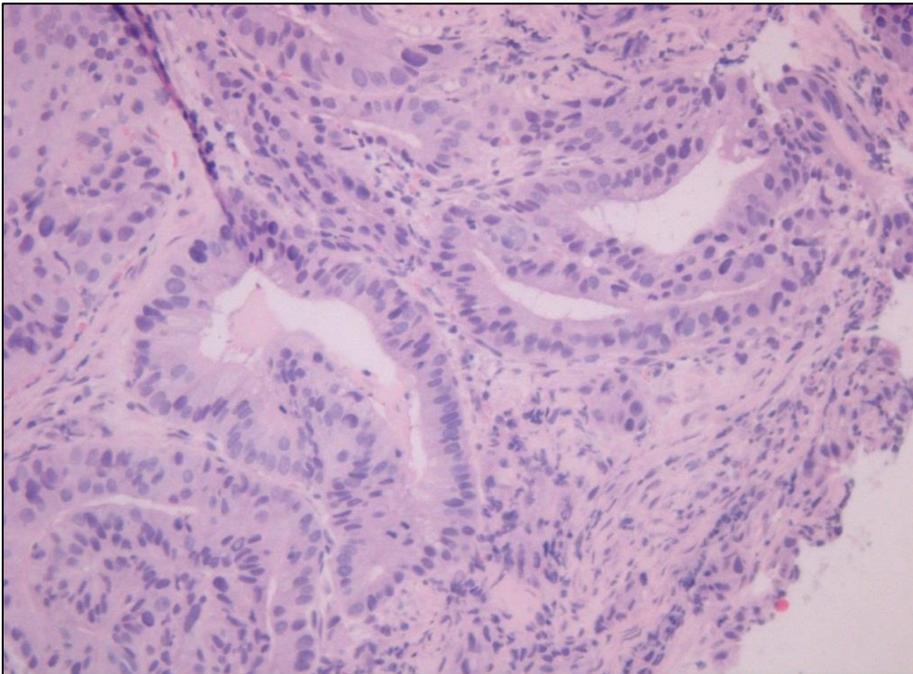


Рис. 61. Рак желудка, кишечный тип по Lauren, окр. гематоксилином и эозином, x100

Клинико-морфологическая характеристика BRCA1-ассоциированных опухолей желудка

Положительный мутационный статус выявлен у двух пациенток, возраст которых составил 60 и 62 года. В обоих случаях присутствовали метастазы в печени, отмечалось метастатическое поражение 4 анатомических зон. У одной больной опухоль локализовалась на дне желудка, а у второй клинические данные о локализации первичной опухоли желудка отсутствовали. По данным гистологического исследования, у обеих больных подтверждены опухоли желудка железистого происхождения. У одной больной с BRCA1-ассоциированной опухолью верифицирована аденокарцинома низкой степени дифференцировки, в то время как у второй пациентки отмечена высоко-дифференцированная аденокарцинома.

У одной больной строение опухоли в пределах исследованного материала соответствовало диффузному типу опухоли по Lauren, у второй – кишечному типу опухоли по Lauren. Признаки наследственного рака присутствовали у обеих больных. У первой пациентки РЯ болела мать. У второй женщины в 44 года был установлен РМЖ, по поводу чего была проведена комплексная терапия. О первично-множественной природе двух этих новообразований можно судить по различной гистологической структуре новообразований молочной железы и желудка, которые возникли с разницей в 18 лет. Опухоль молочной железы имела строение инвазивной неспецифической (дуктальной) карциномы, в то время как опухоль желудка при микроскопическом исследовании имела строение высокодифференцированной аденокарциномы, кишечный тип по Lauren.

Ниже представлены подробные описания обоих клинических случаев.

Клинический случай 1

Больная Т., 60 лет. Диагноз: рак тела желудка IVст., метастазы в печени, абдоминальных, внутригрудных, шейно-надключичных лимфоузлах. Метастатическое распространение процесса установлено при первичном обращении. Выполнена биопсия опухоли желудка, получена гистологическая

верификация: низкодифференцированная аденокарцинома, диффузный тип по Lauren (рис. 62-69).

Больной проведено 6 циклов химиотерапии по схеме цисплатин 100 мг/м² в 1-й день цикла + 5-фторурацил 1000 мг/м² суточные инфузии с 1-ого по 5-й дни цикла. Цикл повторялся каждые 4 недели. На фоне лечения отмечены следующие осложнения: слабость 1 ст., тошнота 2 ст., рвота 2 ст. По данным компьютерной томографии после 2-ого цикла химиотерапии зарегистрирован частичный регресс – уменьшение размеров всех очагов, а также уменьшение количества очагов в печени. После 4 и 6 циклов на контрольных компьютерных томограммах отмечено дальнейшее уменьшение размеров очагов. Прогрессирование заболевания зарегистрировано через 6 месяцев после окончания химиотерапии по данным компьютерной томографии. Временной интервал до прогрессирования составил 10.7 мес. Из-за прогрессивного ухудшения состояния больной химиотерапия 2-ой линии не проводилась. В целом с момента начала химиотерапии пациентка прожила 15 мес.

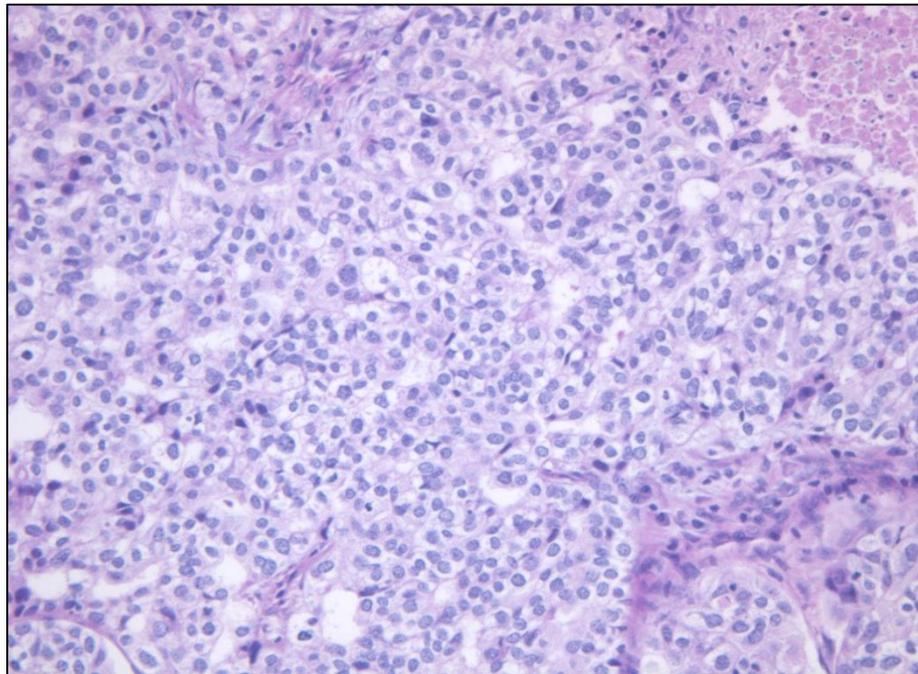


Рис. 62. Клинический случай №1. BRCA1-ассоциированный рак желудка, окр. гематоксилином и эозином, x200

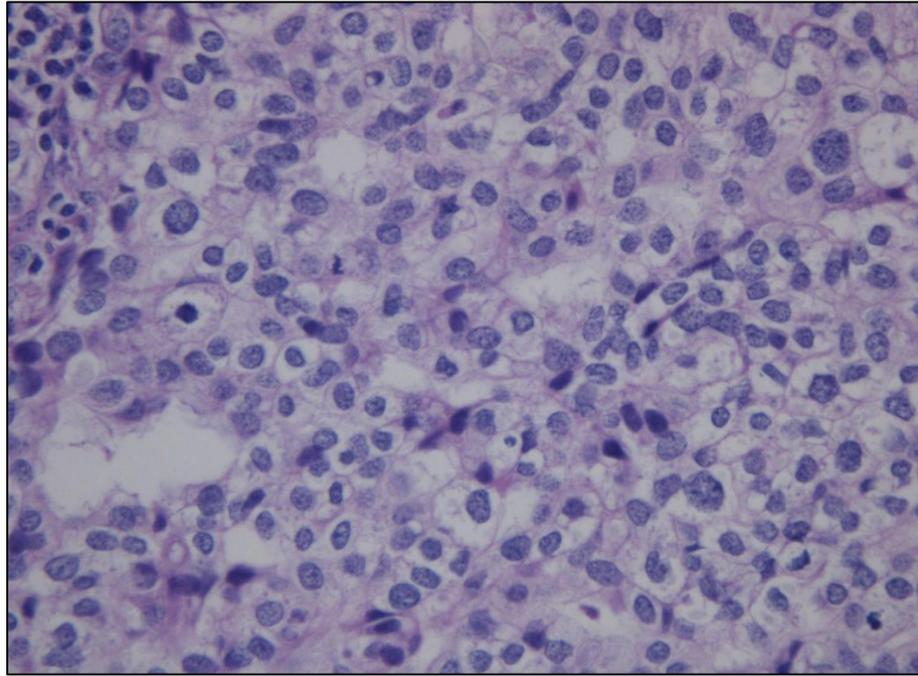


Рис. 63. Клинический случай №1. BRCA1-ассоциированный рак желудка, окр. гематоксилином и эозином, x400

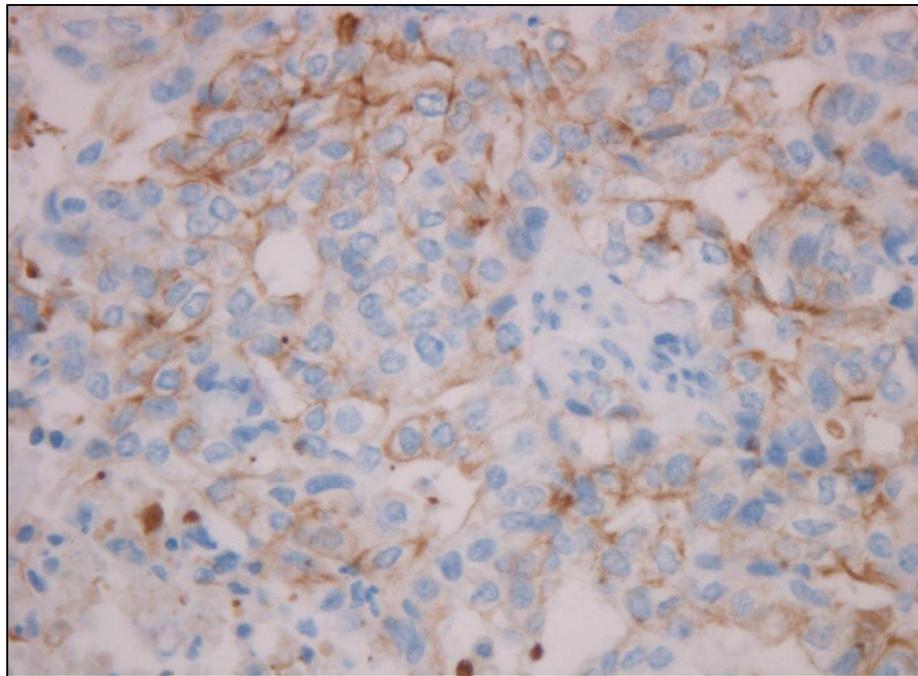


Рис. 64. Клинический случай №1. BRCA1-ассоциированный рак желудка, мембранное окрашивание CK7, x400

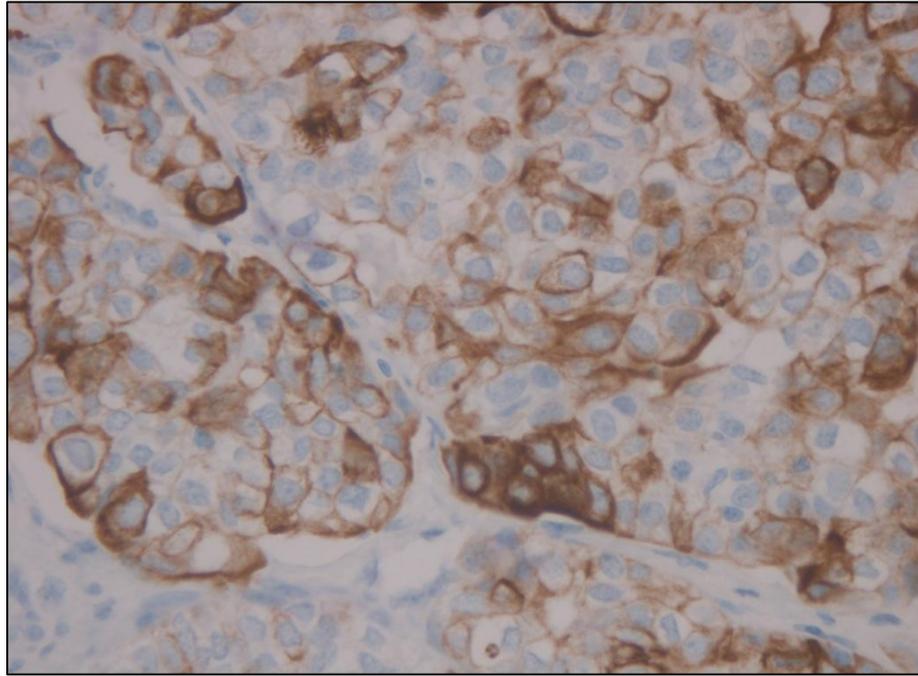


Рис. 65. Клинический случай №1. BRCA1-ассоциированный рак желудка, мембранное окрашивание CK20, х400

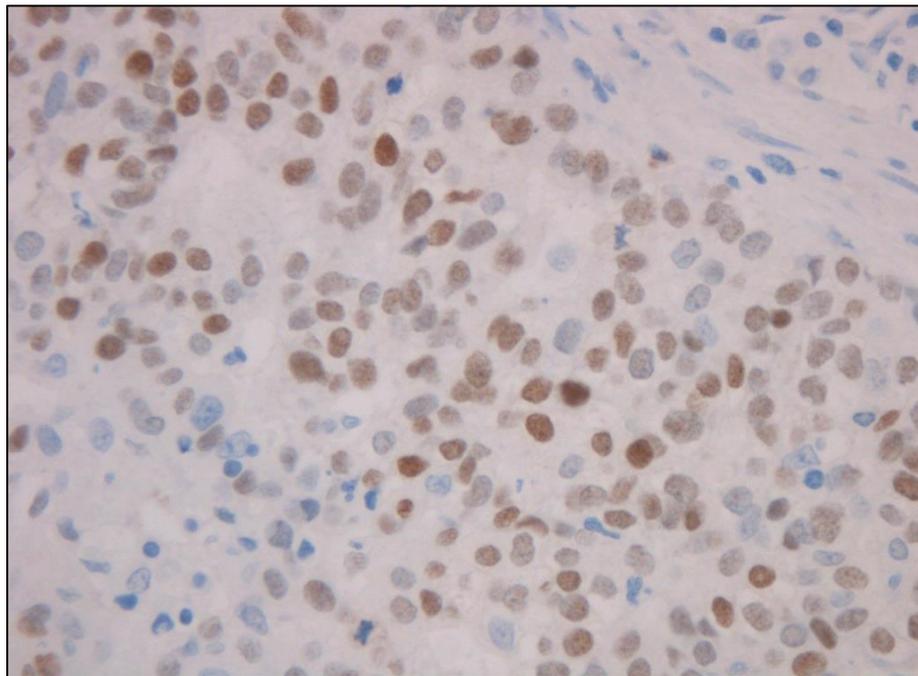


Рис. 66. Клинический случай №1. BRCA1-ассоциированный рак желудка, ядерное окрашивание CDX2, х400

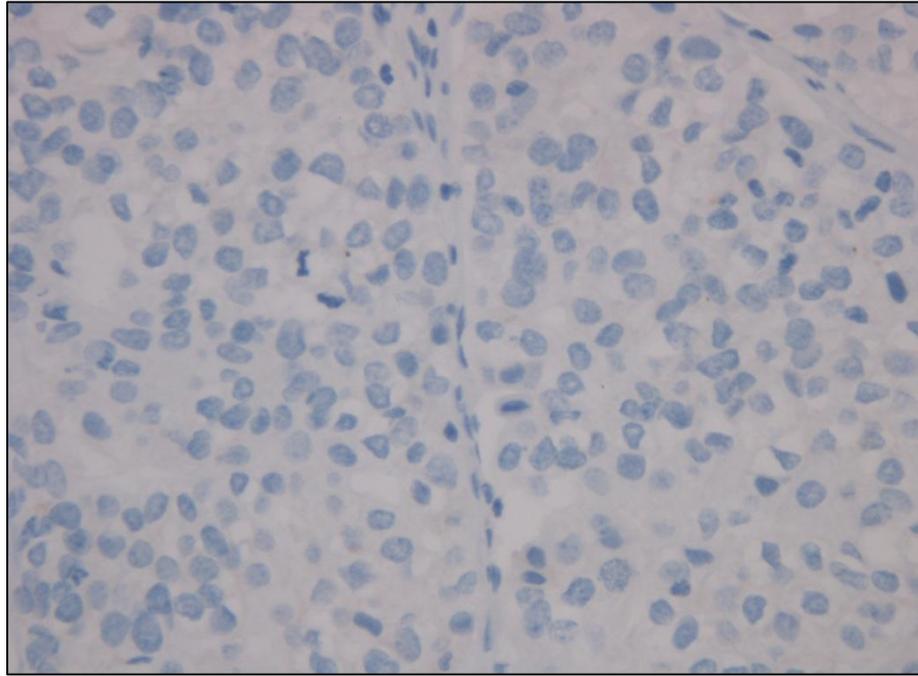


Рис. 67. Клинический случай №1. BRCA1-ассоциированный рак желудка, негативное окрашивание HER2, x400

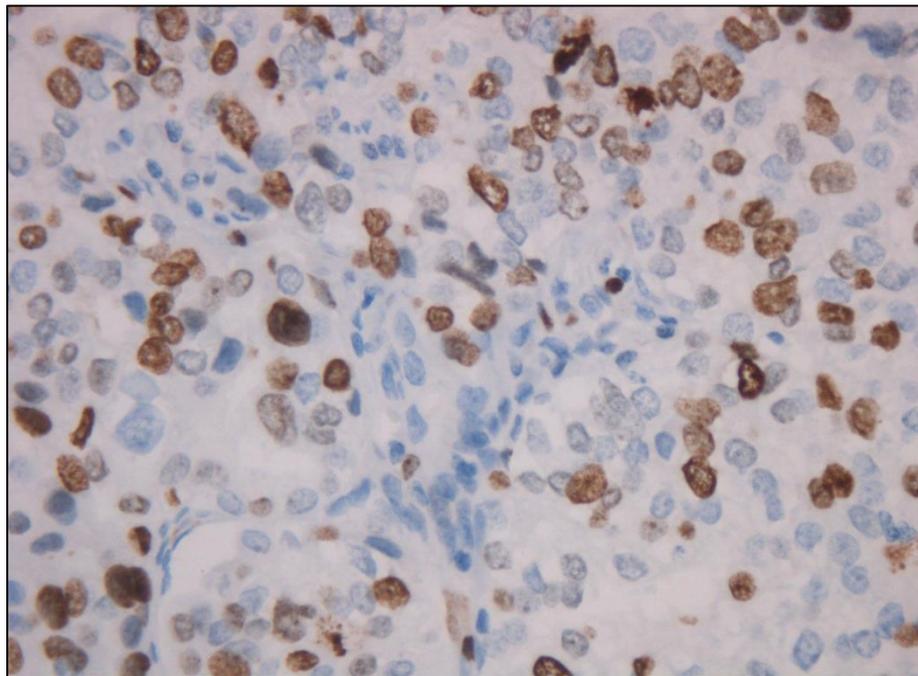


Рис. 68. Клинический случай №1. BRCA1-ассоциированный рак желудка, ядерное окрашивание Ki67, x400

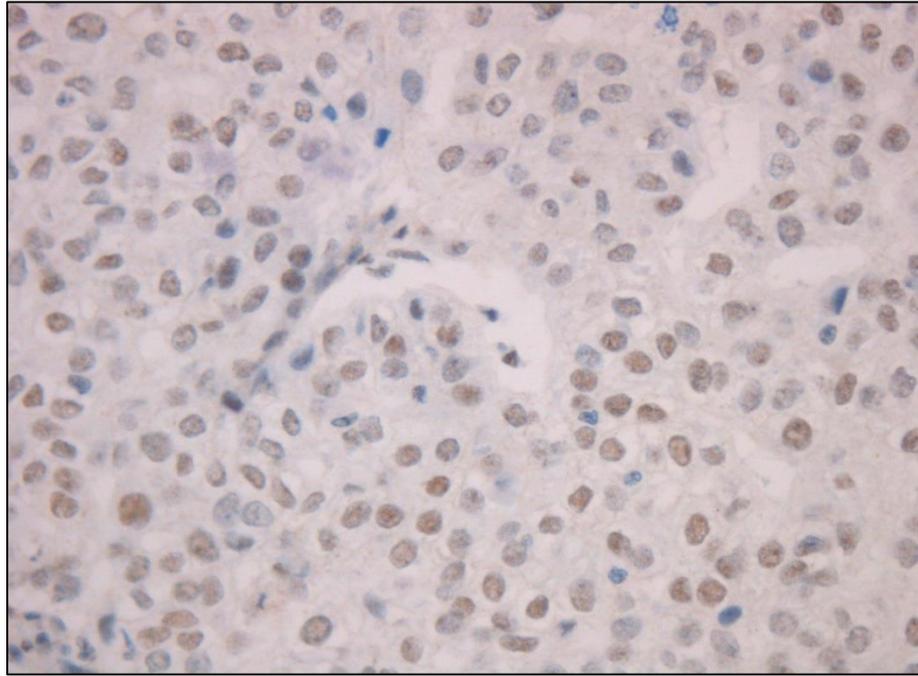


Рис. 69. Клинический случай №1. BRCA1-ассоциированный рак желудка, ядерное окрашивание p53, x400

Клинический случай 2

Больная Б., 62 лет. Диагноз: Первично-множественный метакронный рак: 1) рак правой молочной железы, состояние после радикального комплексного лечения в 1991 г. 2) рак тела желудка, метастазы в абдоминальных и левых надключичных лимфатических узлах, солитарный метастаз в печени.

Наличие отдалённых метастазов было установлено при первичном обращении. Гистологическое подтверждение диагноза получено при исследовании биоптата опухоли желудка: высокодифференцированная аденокарцинома, кишечный тип по Lauren (рис. 70-77). До начала лечения при компьютерной томографии выявлены множественные метастазы в чревных, парагастральных, парааортальных лимфоузлах диаметром от 13 до 28 мм, единичный метастаз в печени 10 мм диаметром. В левой надключичной области по данным физикального осмотра отмечен увеличенный лимфоузел 3 см диаметром. При гастроскопии определялась изъязвленная опухоль в теле желудка диаметром 4 см.

Больной проведено 18 циклов химиотерапии по схеме доксорубицин 40 мг/м² в 1-й день цикла + цисплатин 60 мг/м² в 1-й день цикла + 5-фторурацил 1000 мг/м² суточные инфузии с 1-ого по 5-й дни цикла. 17-й и 18-й циклы проведены без доксорубицина в связи с достижением порога допустимой кумулятивной дозы препарата. Каждые 4 недели цикл повторялся. Отмечены следующие осложнения на фоне терапии: тошнота 2 ст., рвота 2 ст., слабость 1ст., нейтропения 3 ст., снижение клиренса креатинина 1 ст., периферическая сенсорная нейропатия 1 ст. После 4-ого цикла химиотерапии на фоне лечения отмечен полный регресс метастаза в надключичном лимфоузле, солитарного очага в печени. В то же время, размеры метастатически поражённых абдоминальных лимфоузлов сохранялись прежними. При гастроскопии после 6-ого цикла отмечено уменьшения диаметра опухоли в желудке с 4 см до 1.2 см. По данным компьютерной томографии частичный регресс зарегистрирован после 8-ого цикла химиотерапии в виде уменьшения размеров всех поражённых метастазами абдоминальных лимфоузлов. В дальнейшем размеры очагов оставались стабильными. После 18-ого цикла химиотерапии при компьютерной томографии зарегистрировано прогрессирование процесса – увеличение размеров абдоминальных лимфоузлов до 22-26 мм. Время до прогрессирования составило 21.9 мес. В последующем больная получала химиотерапию 2-й линии хлорбутином 10мг/сут. Достигнута стабилизация процесса в течение 6 месяцев, после чего, по данным эндоскопического исследования, зарегистрировано прогрессирование в виде увеличения опухоли в желудке. Также развилась механическая желтуха. Больная получала симптоматическую терапию. Состояние больной прогрессивно ухудшалось, пациентка с момента начала химиотерапии 1-й линии прожила 31 мес.

Таким образом, на фоне стандартной химиотерапии у обеих больных был отмечен частичный регресс. Время до прогрессирования составило – 10.7 мес. и 21.9 мес.

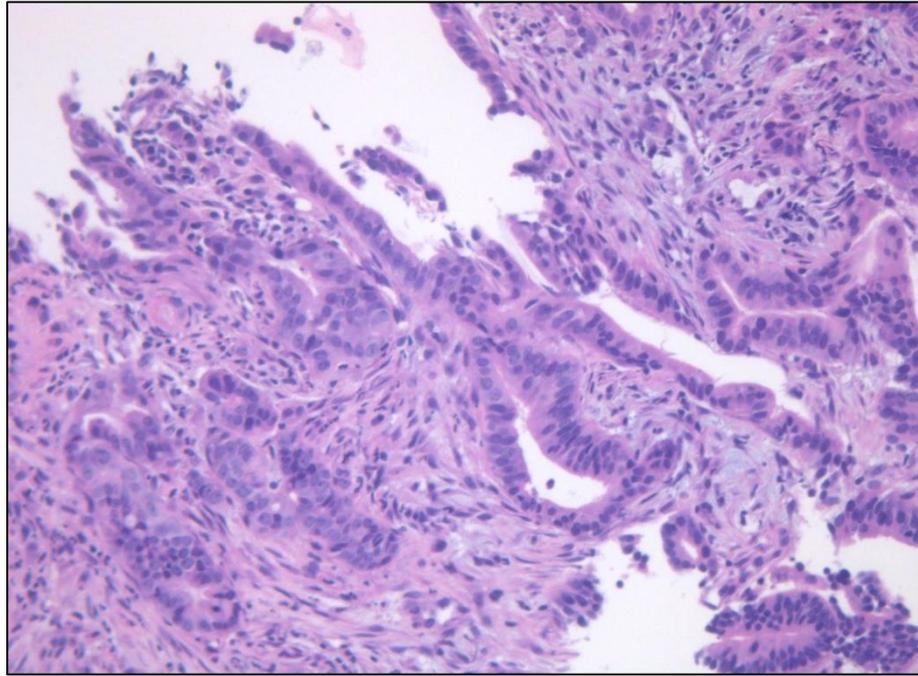


Рис. 70. Клинический случай №2. BRCA1-ассоциированный рак желудка, окр. гематоксилином и эозином, x200

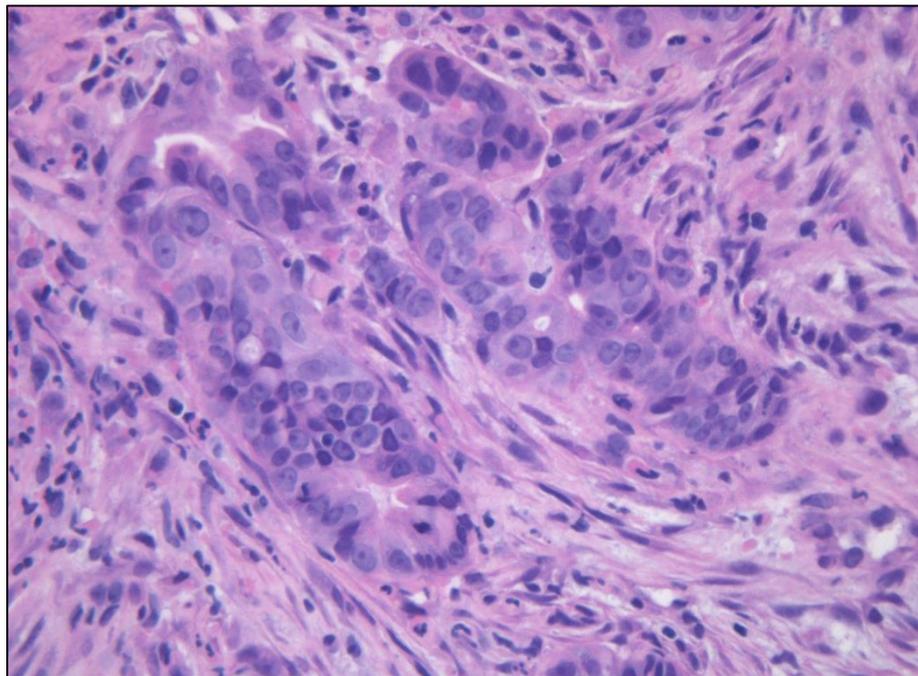


Рис. 71. Клинический случай №2. BRCA1-ассоциированный рак желудка, окр. гематоксилином и эозином, x400

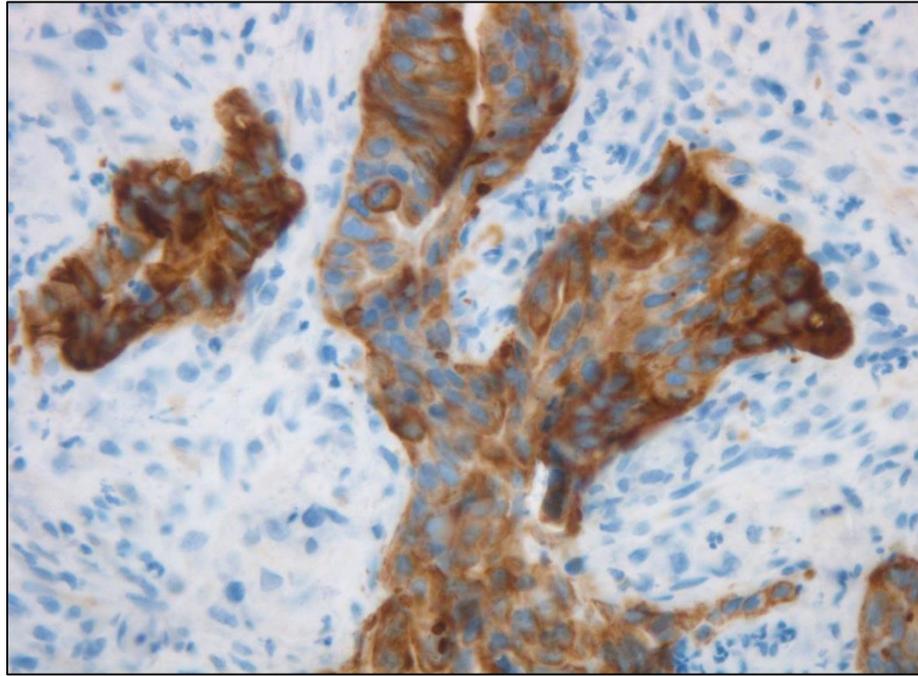


Рис. 72. Клинический случай №2. BRCA1-ассоциированный рак желудка, мембранное окрашивание CK7, x400

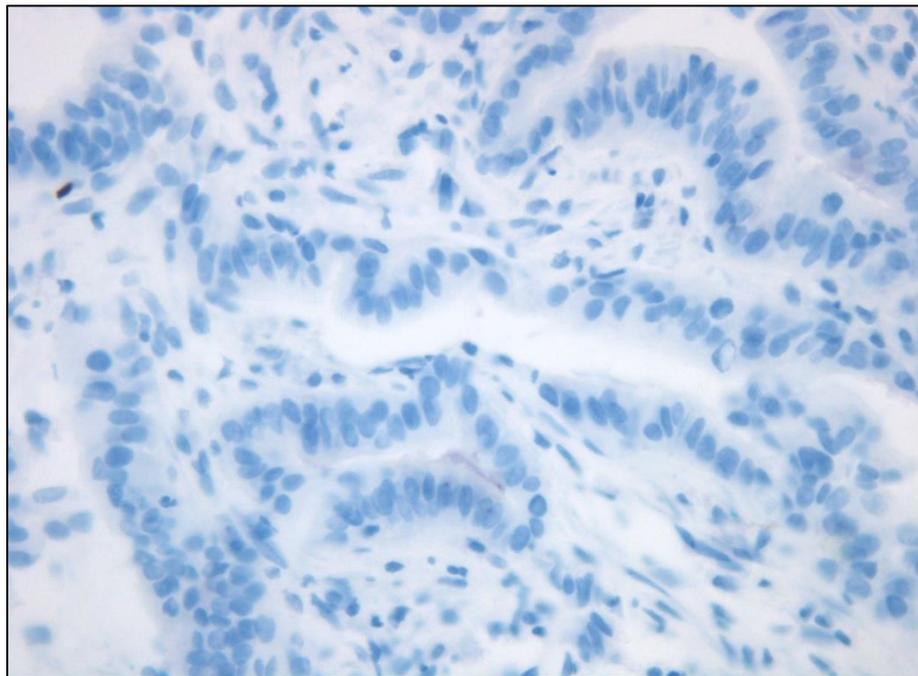


Рис. 73. Клинический случай №2. BRCA1-ассоциированный рак желудка, негативное окрашивание CK20, x400

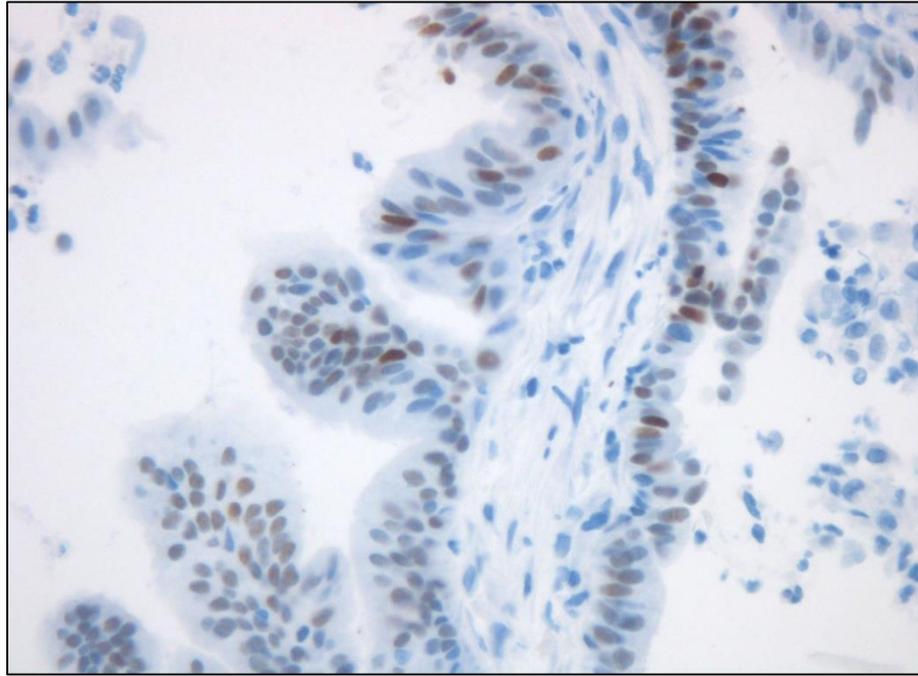


Рис. 74. Клинический случай №2. BRCA1-ассоциированный рак желудка, фокальное ядерное окрашивание CDX2, x400

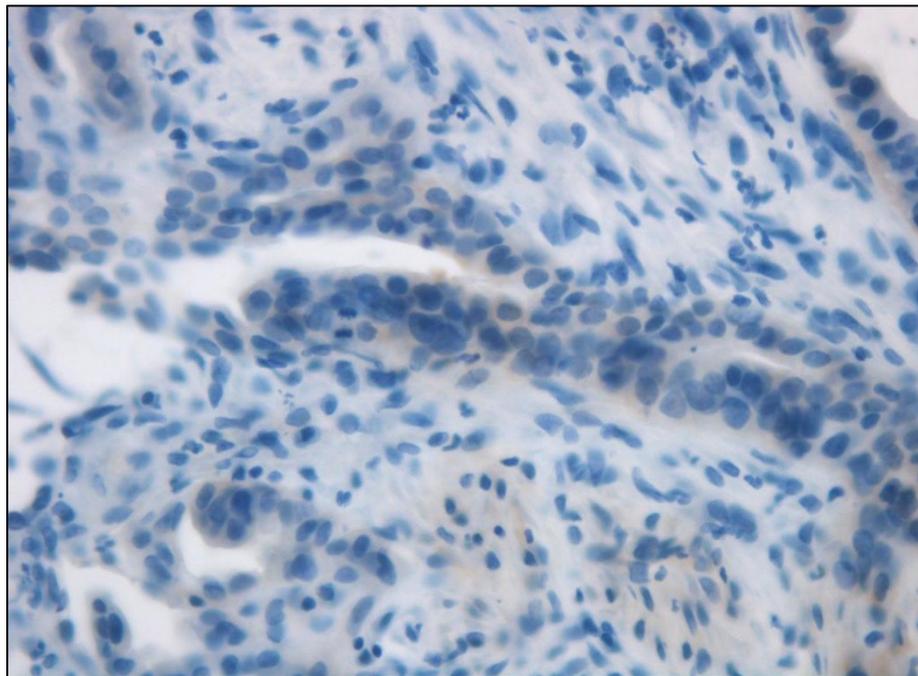


Рис. 75. Клинический случай №2. BRCA1-ассоциированный рак желудка, негативное окрашивание HER2, x400

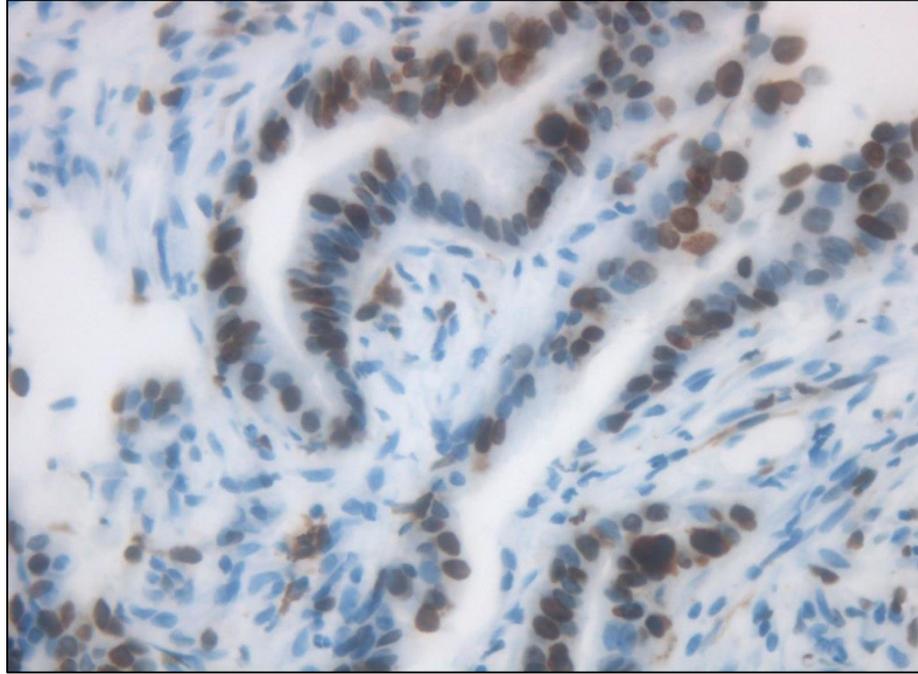


Рис. 76. Клинический случай №2. BRCA1-ассоциированный рак желудка, ядерное окрашивание Ki67, x400

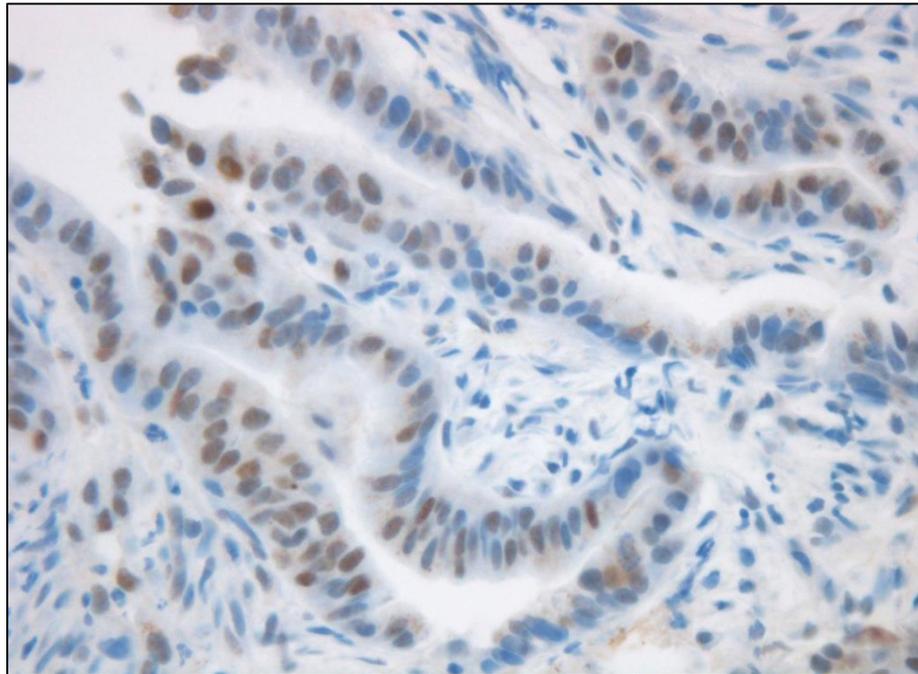


Рис. 77. Клинический случай №2. BRCA1-ассоциированный рак желудка, слабое ядерное окрашивание p53, x400

3.4. Редкие типы BRCA1-ассоциированных опухолей

Помимо часто встречающихся BRCA1-ассоциированных опухолей молочной железы и яичника, в рамках рутинной клинической деятельности нами были выявлены больные с мутацией в гене BRCA1, для которых клиническая картина, течение заболевания и прогноз с учётом особенностей молекулярного статуса и гистотипа опухоли не описаны в доступной литературе.

Смешанная эпителиально-мезенхимальная метапластическая карцинома молочной железы у носительницы мутации в гене BRCA1 (описание клинического случая)

Больная К., 35 лет, обратилась в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова в 2004 году с образованием левой молочной железы. По результатам эксцизионной биопсии выявлена опухоль с морфологическими признаками саркомы. На основании подобного диагноза пациентке была выполнена мастэктомия без диссекции лимфатических узлов. Тщательное гистологическое исследование операционного макропрепарата подтвердило результаты биопсии. Помимо этого, были выявлены мелкие скопления эпителиальных клеток. Таким образом, диагноз был изменён на смешанную эпителиальную/мезенхимальную метапластическую карциному (карциносаркома) (рис. 78). Оба компонента - эпителиальный и мезенхимальный - были низкодифференцированными, при иммуногистохимическом исследовании демонстрировали негативную экспрессию ER, PgR, HER2, desmin, MyoD, smooth muscle actin, и synaptophysin. Положительное окрашивание с антителами к CK8 и MCK отмечено в эпителиальном компоненте, но не в саркоматоидных участках (рисунки 79-81). В то же время, положительная экспрессия vimentin преобладала в мезенхимальном компоненте опухоли. Отсутствие экспрессии цитокератинов в саркоматоидных клетках позволяют исключить веретеночлеточную карциному. Дифференциальный диагноз с филоидной опухолью основывается на отсутствии характерной листовидно-подобной структуры опухоли; кроме того, было принято во внимание, что эпителиальный компонент филоидных опухолей редко подвергается злокачественной трансформации. У больной наблюдалось быстрое

прогрессирование заболевания, что типично для карциносаркомы молочной железы. Во время контрольного обследования через 21 мес. после первой операции была выявлена опухоль в левом яичнике. Комплексный морфологический и иммуногистохимический анализ образования яичника показал поразительное сходство с эпителиальным компонентом опухоли молочной железы; на основании этого установлена метастатическая природа образования яичника. Через 2 мес. наблюдения отмечено множественное метастатическое поражение костей, пациентка скончалась от прогрессирования заболевания через 2.5 года от первичной постановки диагноза. Причины необычных проявлений опухоли остались неясными. Существенно, что даже очень необычные типы опухолей молочной железы могут развиваться посредством биаллельной инактивации гена BRCA1, что необходимо учитывать при генетическом тестировании.

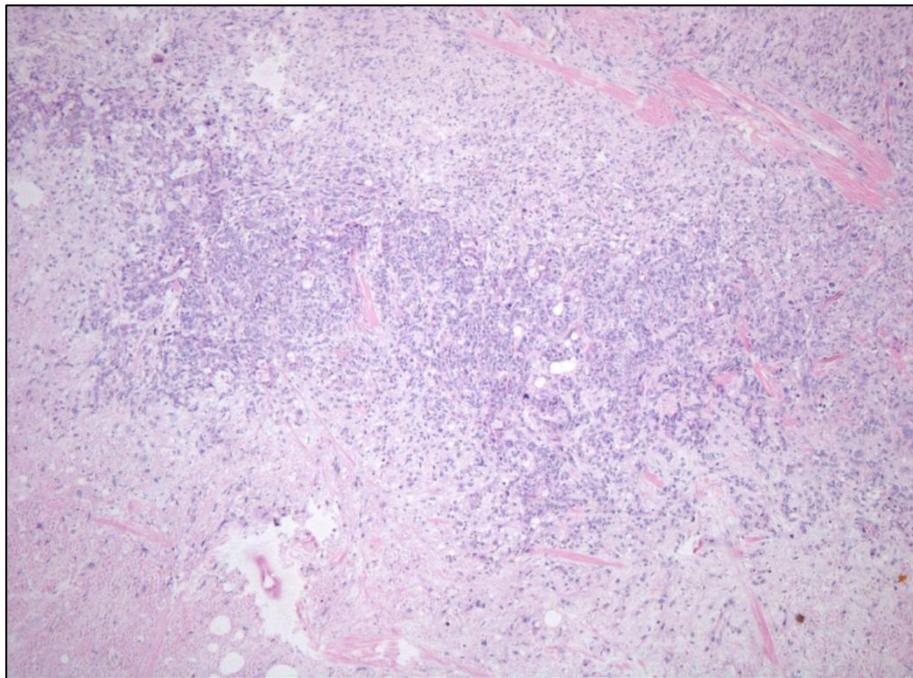


Рис. 78. Карциносаркома молочной железы, окр. гематоксилином и эозином, x50

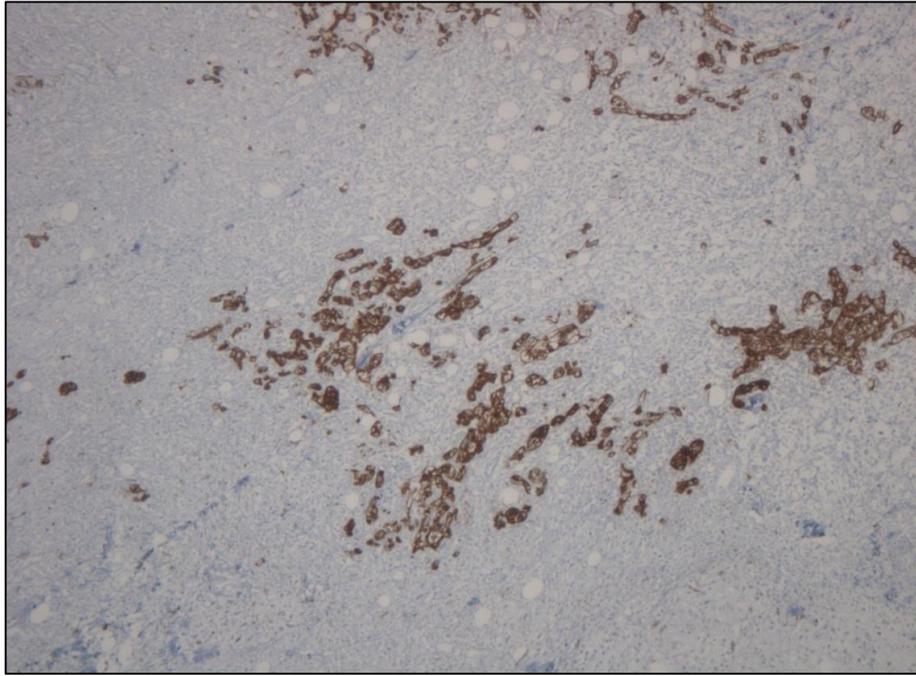


Рис. 79. Карциносаркома молочной железы, цитоплазматическое окрашивание МСК эпителиального компонента, х50

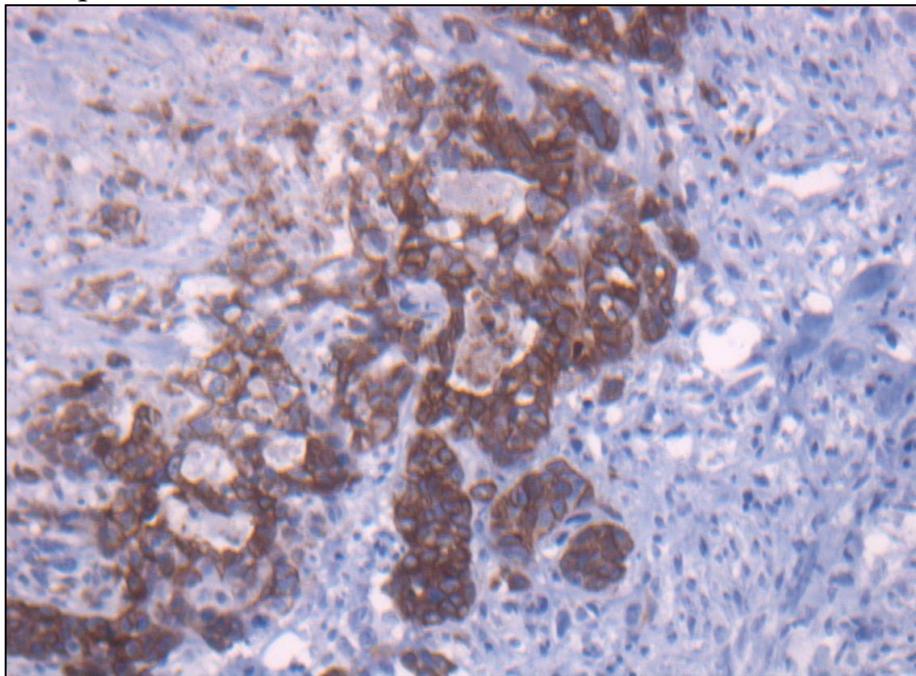


Рис. 80. Карциносаркома молочной железы, цитоплазматическое окрашивание СК7 эпителиального компонента, х200

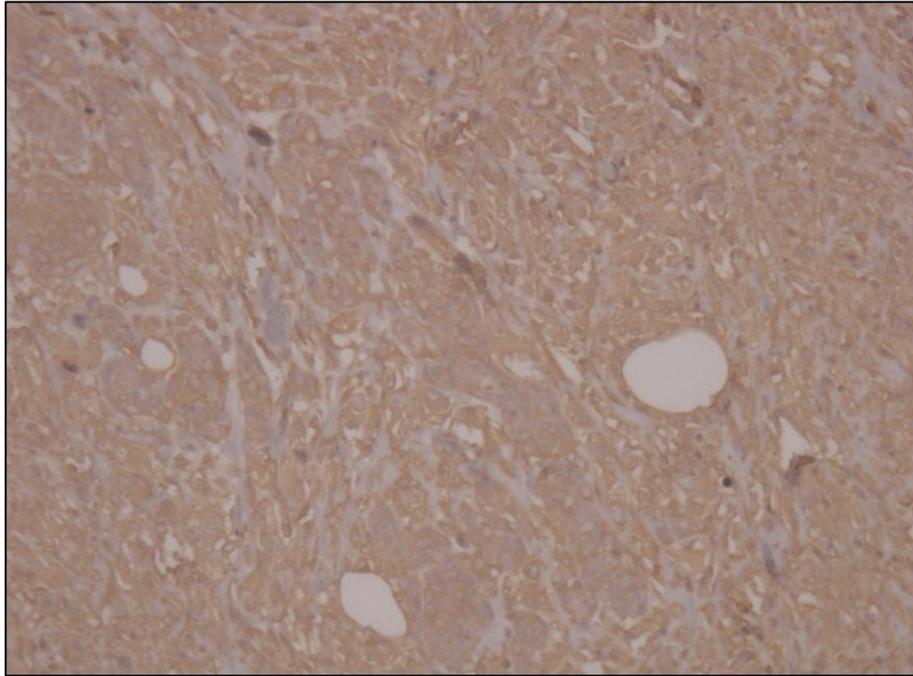


Рис. 81. Карциносаркома молочной железы, цитоплазматическое окрашивание мезенхимального компонента vimentin, x200

Карциноид лёгкого у носительницы мутации в гене BRCA1 (описание клинического случая)

Больная Л., 64 года, обратилась в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова в октябре 2015 года, когда был установлен диагноз рака яичника стадии IIIС (FIGO), сТ3сNхM0. У пациентки зарегистрированотягощённый семейный анамнез (у матери – рак яичника в возрасте 76 лет; у сестры – рак яичника в 60 лет). При молекулярно-генетическом тестировании выявлена мутация в гене BRCA1 5382insС. На первом этапе комбинированного лечения пациентка получила 3 цикла неoadъювантной полихимиотерапии по схеме цисплатин + митомицин С (внутренний протокол НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова) с достижением полного клинического регресса опухоли (по шкале RECIST 1.1), после чего 12 декабря 2016 года выполнена оптимальная циторедуктивная операция в объеме экстирпации матки с придатками, оментэктомии. При патоморфологическом исследовании удалённого препарата установлен гистологический тип опухоли: серозная карцинома высокой степени

злокачественности левого яичника (рис. 82) (иммуногистохимическое исследование опухолевых клеток: ER, p16, PAX8, WT1 позитивные, p53, PR негативные, Ki-67 – 15%), метастазы в 5 фрагментах большого сальника, 1,8 см в наибольшем измерении, степень регресса опухоли в яичнике – 2, в большом сальнике – 2 (по Vohm et al.), pT3b. Белые тела, стромальная гиперплазия правого яичника. Затем в адьювантном режиме выполнено 4 цикла полихимиотерапии по той же схеме (последний курс химиотерапии 25 июля 2016 года) (рис. 83-89).

При контрольном обследовании в марте 2017 на фоне клинической ремиссии по основному заболеванию при компьютерной томографии грудной клетки с в/в контрастированием отмечено появление полусферического утолщения медиастинальной плевры слева на уровне С3 левого лёгкого, 13x8 мм (рис. 90).

30 марта 2017 года выполнена диагностическая видеоторакоскопия слева, миниторакотомия слева, резекция язычковых сегментов левого лёгкого. При патоморфологическом исследовании удалённого препарата установлен гистологический тип опухоли: типичный карциноид левого легкого (рис. 91-98; иммуногистохимическое исследование: СК8, синаптофизин, TTF-1 позитивные, p16, p53 негативные, Ki-67 – 2%). Молекулярный анализ опухолевых клеток карциноида лёгкого выявил потерю гетерозиготности в локусе гена BRCA1 (утрата аллеля дикого типа).

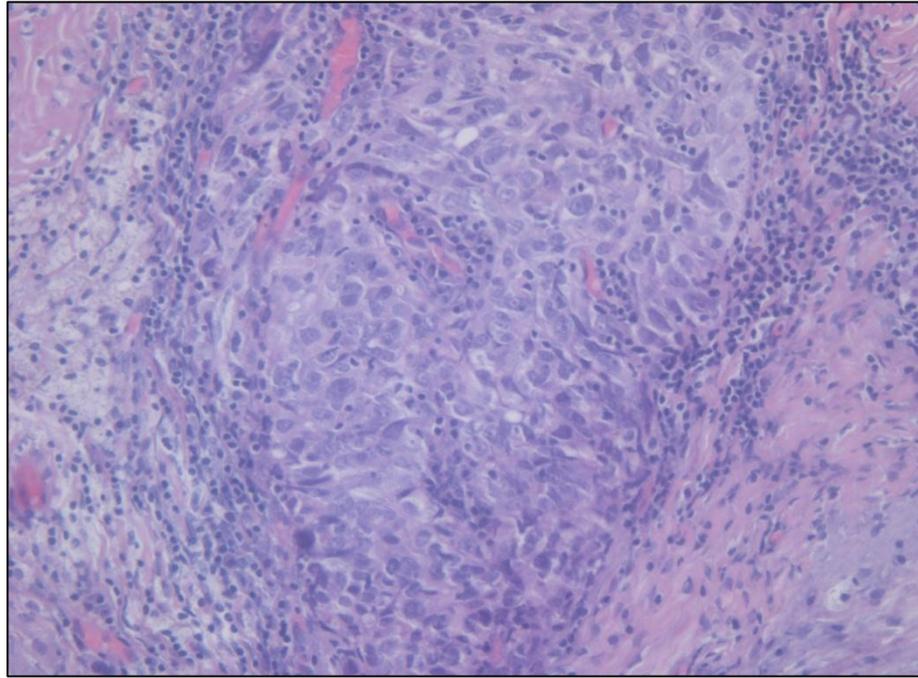


Рис. 82. Серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности, окр. гематоксилином и эозином, x200

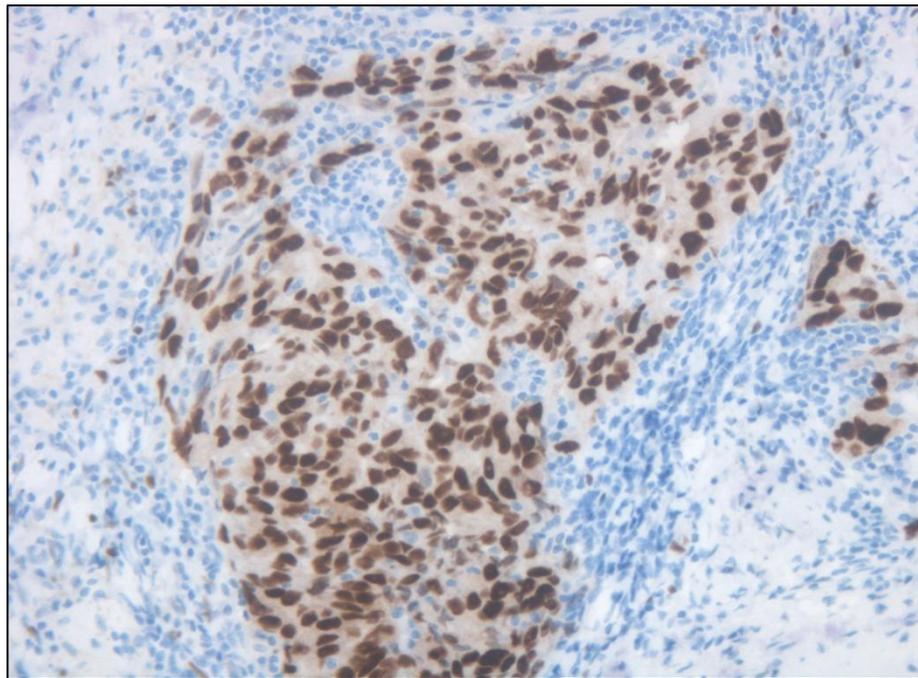


Рис. 83. Серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности, ядерное окрашивание PAX8, x200

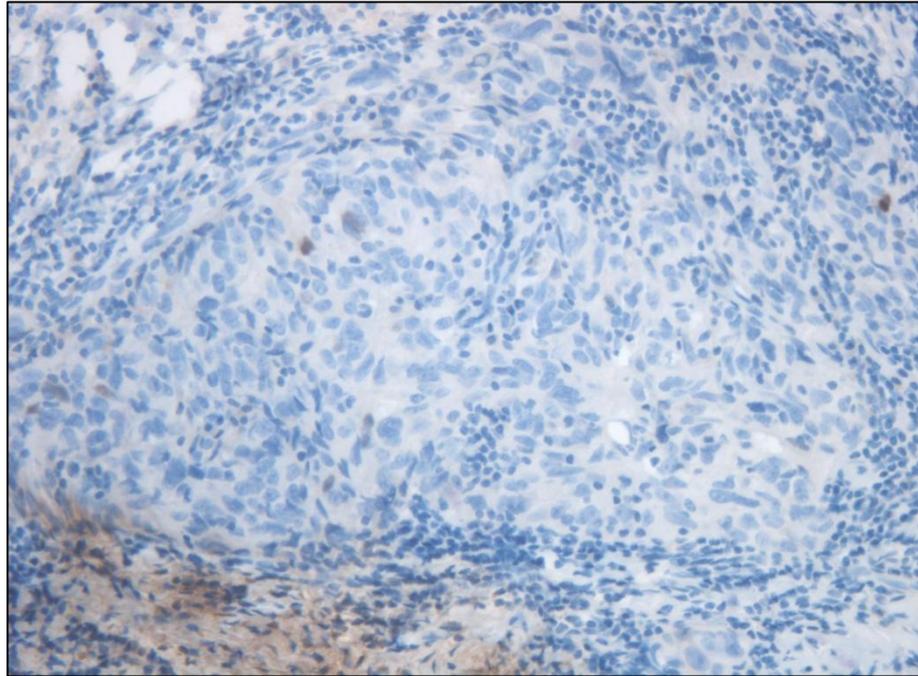


Рис. 84. Серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности, негативное окрашивание PR, x200

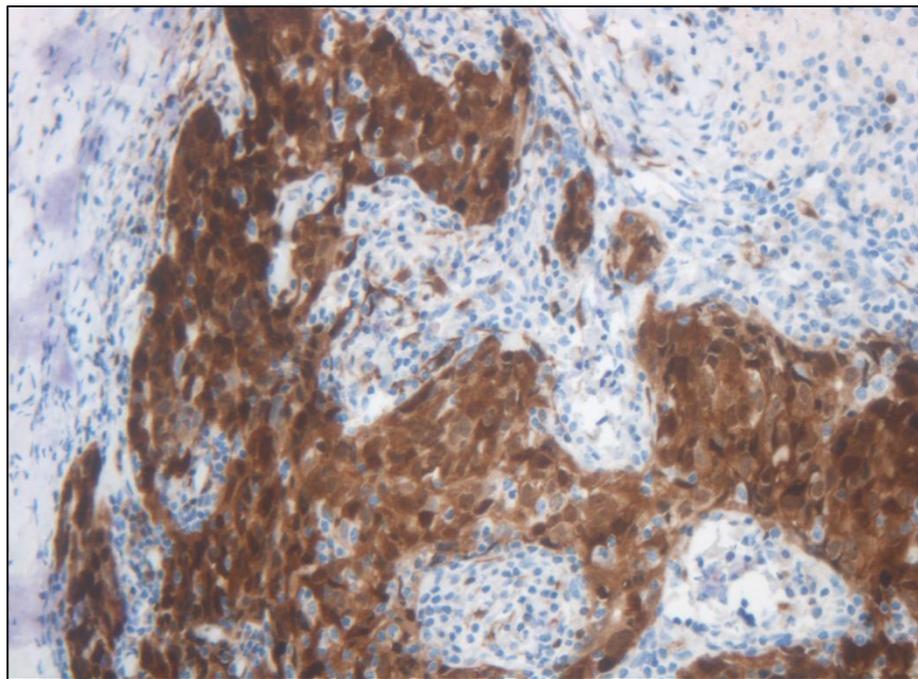


Рис. 85. Серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности, цитоплазматическое окрашивание P16, x200

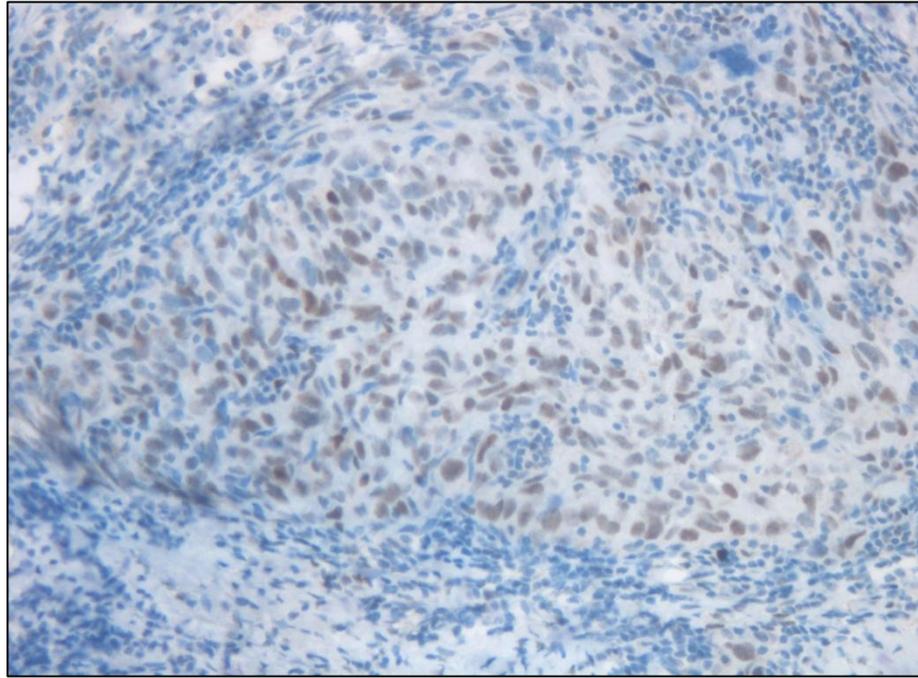


Рис. 86. Серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности, слабое ядерное окрашивание P53, x200

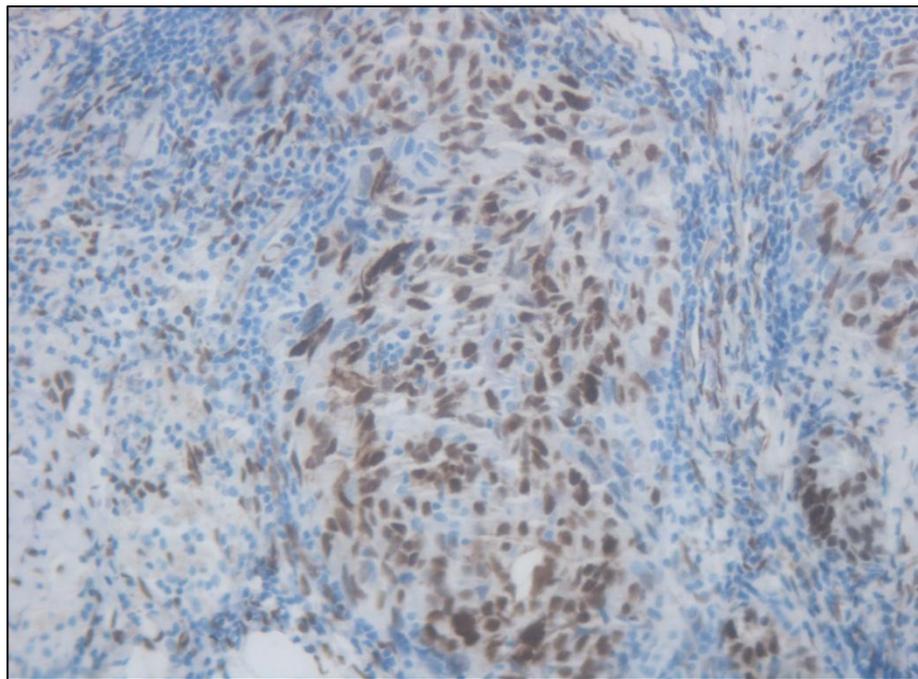


Рис. 87. Серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности, ядерное окрашивание WT1, x200

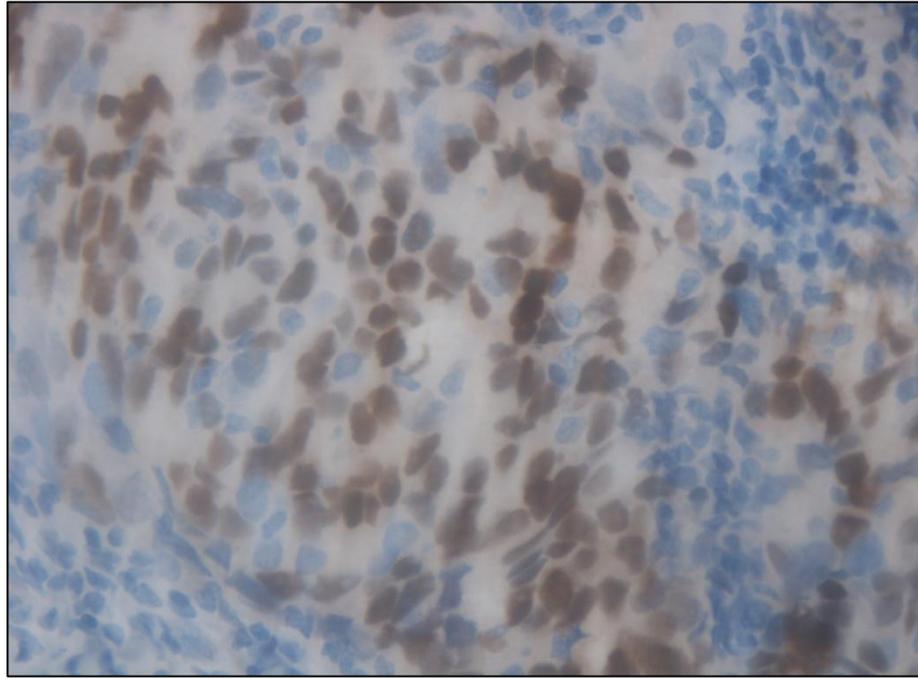


Рис. 88. Серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности, ядерное окрашивание ER, x400

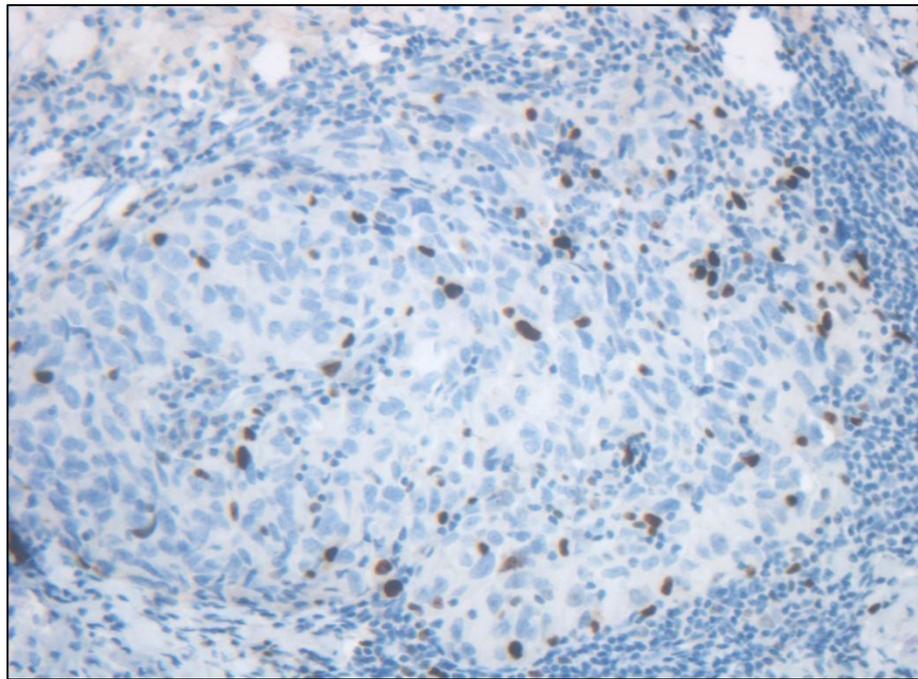


Рис. 89. Серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности, ядерное окрашивание Ki67, x200

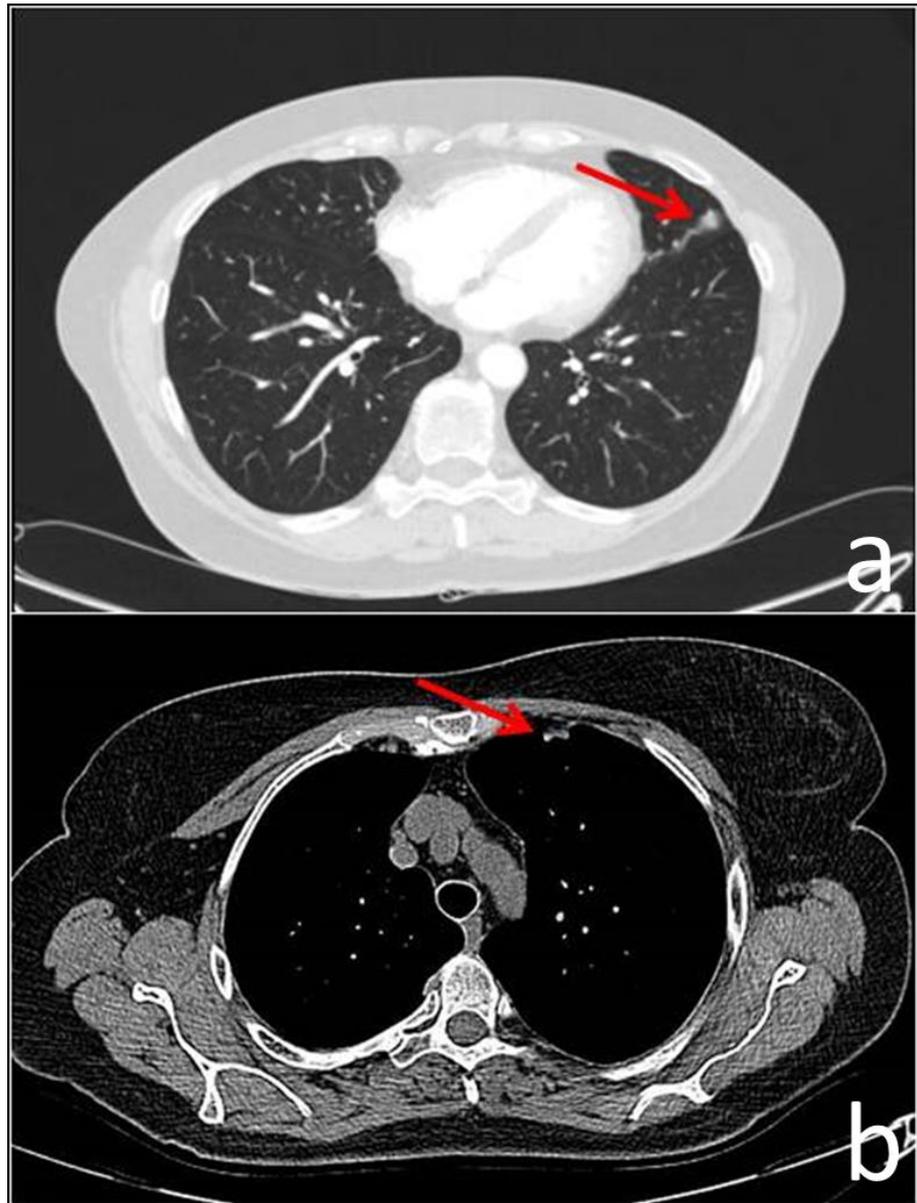


Рис. 90. Компьютерная томограмма грудной клетки с в/в контрастированием. Полусферическое утолщение медиастинальной плевры слева на уровне С3 левого лёгкого (а. январь 2017, б. февраль 2017 года)

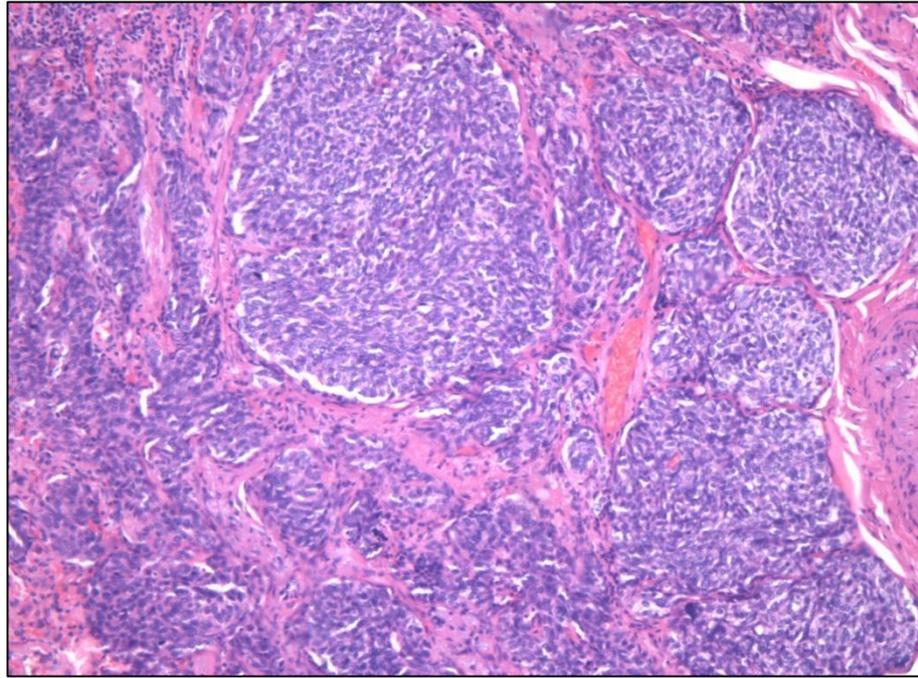


Рис. 91. Типичный карциноид лёгкого, окр. гематоксилином и эозином, x100

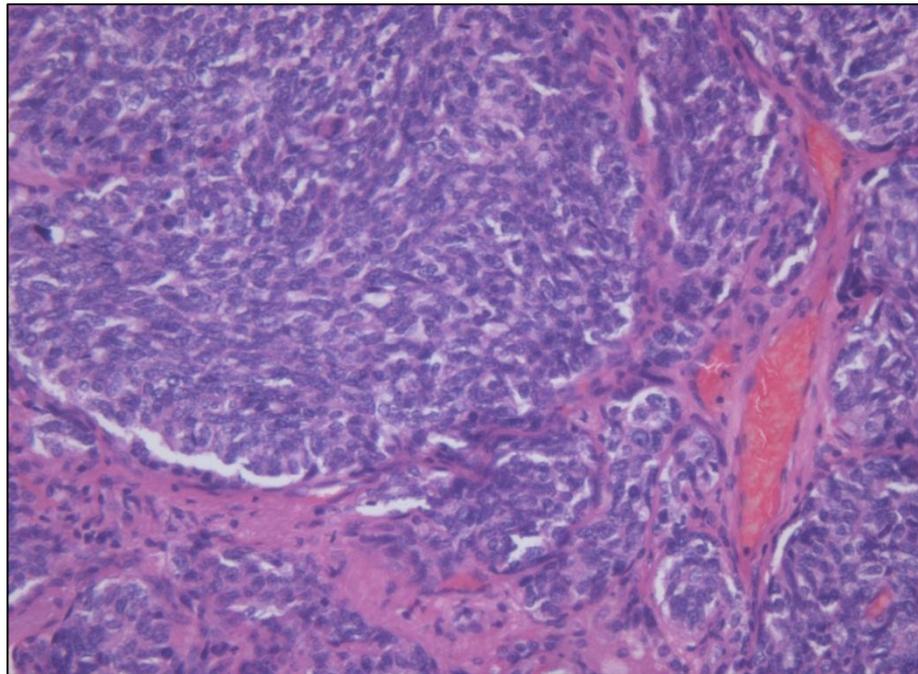


Рис. 92. Типичный карциноид лёгкого, окр. гематоксилином и эозином, x200

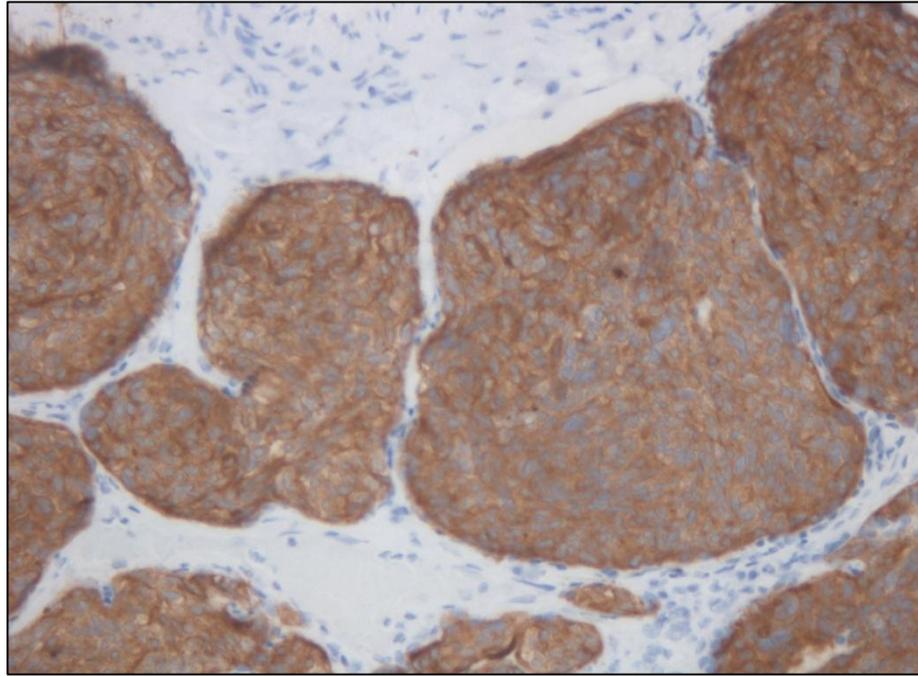


Рис. 93. Типичный карциноид лёгкого, цитоплазматическое окрашивание synaptophysin, x200

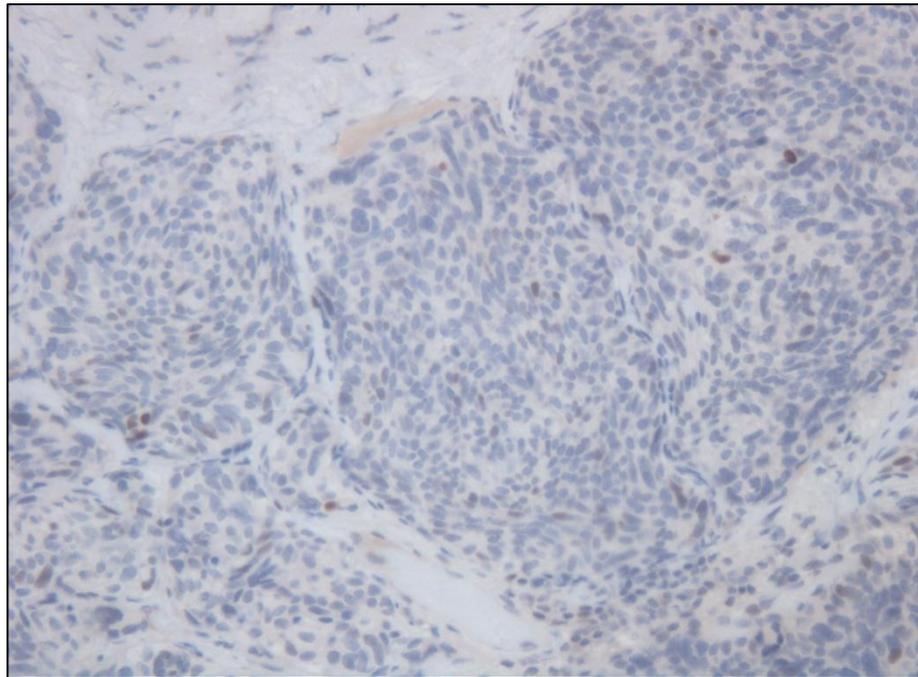


Рис. 94. Типичный карциноид лёгкого, негативное окрашивание P53, x200

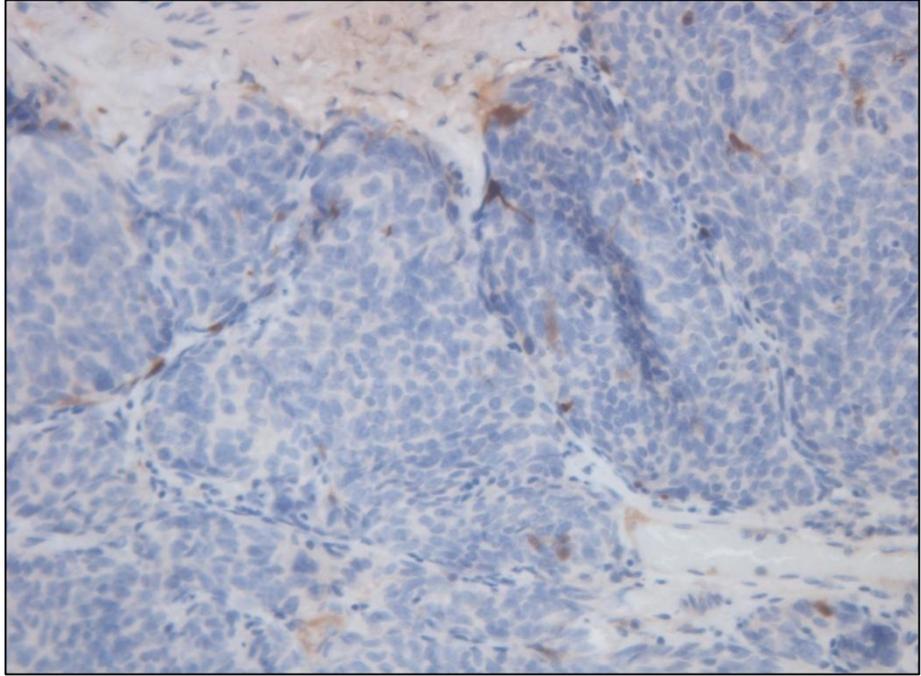


Рис. 95. Типичный карциноид лёгкого, негативное окрашивание P16, x200

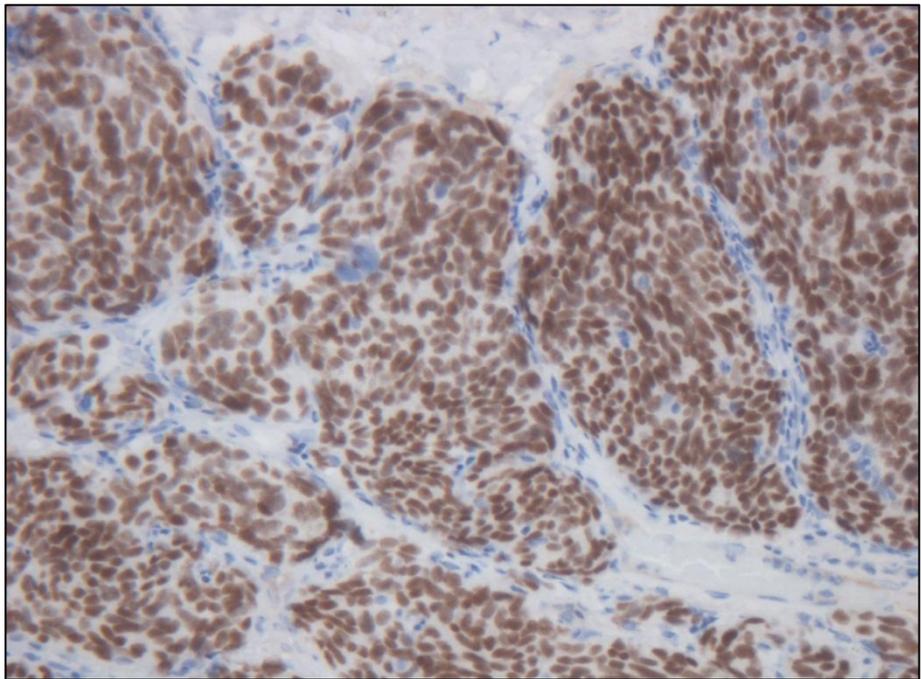


Рис. 96. Типичный карциноид лёгкого, ядерное окрашивание TTF1, x200

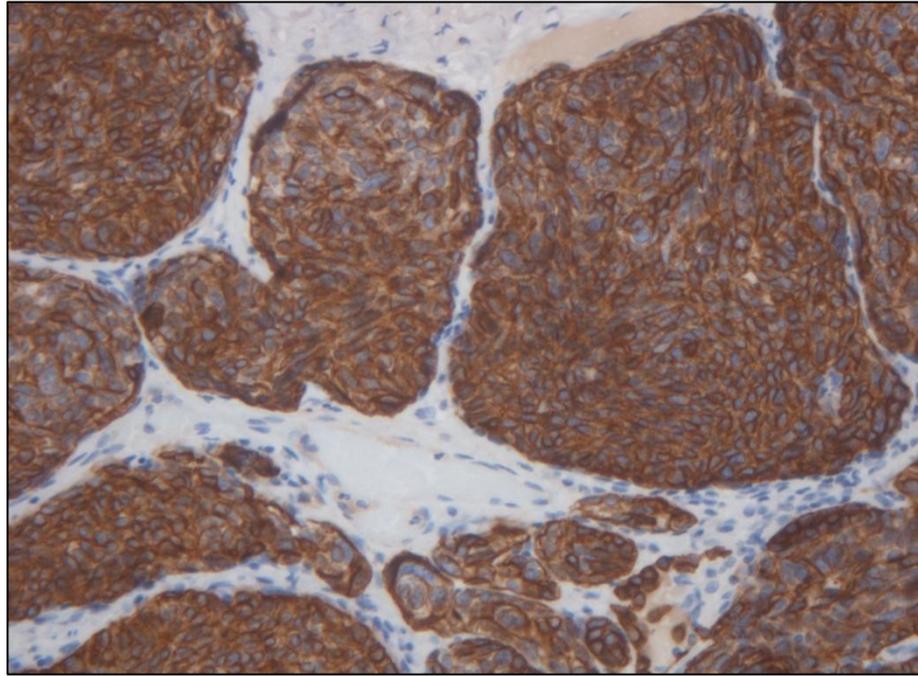


Рис. 97. Типичный карциноид лёгкого, цитоплазматическое окрашивание CK8, x200

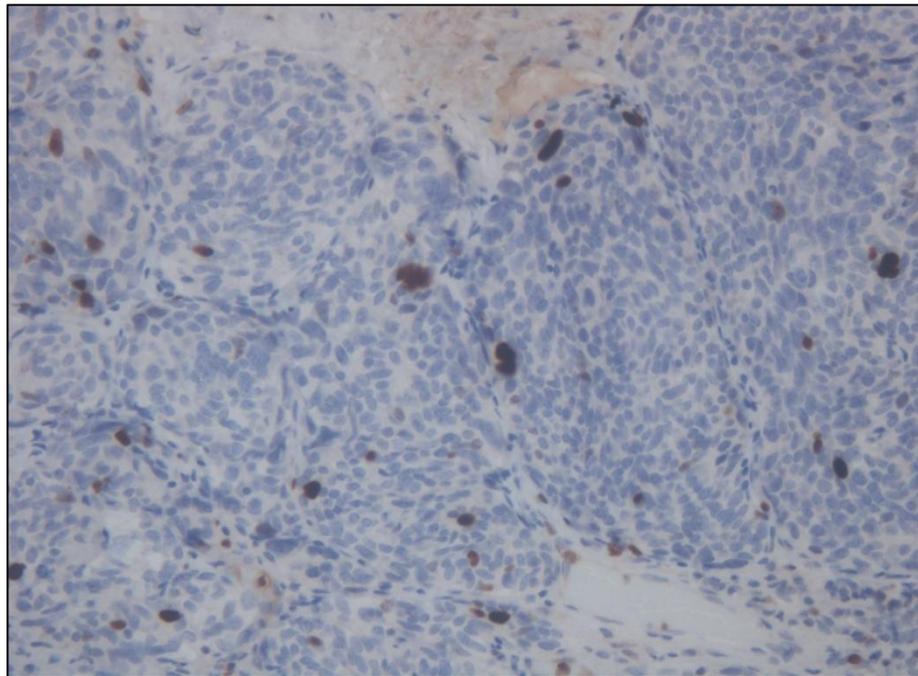


Рис. 98. Типичный карциноид лёгкого, ядерное окрашивание Ki67, x200

ОБСУЖДЕНИЕ

Рак молочной железы

Морфологические особенности РМЖ с наследственными мутациями гена BRCA1 в разных этнических группах изучены сравнительно подробно [63, 137]. В рамках данного исследования проведён системный анализ морфологических и иммуногистохимических особенностей BRCA1-ассоциированных опухолей среди больных Российской Федерации в сравнении с контрольной группой пациенток без мутации.

В нашей работе был использован дизайн исследования, предполагающий включение больных РМЖ в возрасте до 50 лет, поскольку BRCA1-ассоциированный РМЖ развивается чаще у молодых женщин. В целом, в группе из 414 больных частота мутаций в гене BRCA1 составила 4.6% (19/414). Средний возраст больных с мутацией BRCA1 составил 40.9 лет. Во всех BRCA1-опосредованных случаях наблюдался неспецифический (дуктальный) гистологический тип опухоли, а также преобладала низкая степень дифференцировки опухоли (G3). Полученные данные соответствуют наблюдениям, представленным в других работах [37, 190]. Высокий митотический индекс, плеоморфизм ядер опухолевых клеток (nuclear grade), формирование опухоли тубулярных структур, изученные разными авторами по отдельности, в настоящее время являются элементами комбинированной оценки степени дифференцировки опухоли (grade), поэтому не рассматривались нами по отдельности, а учитывались только в комплексе, в соответствии с существующими требованиями [18, 100, 113].

В целом, 69 из 240 вошедших в исследование случаев РМЖ (28.7%) обладали трижды-негативным фенотипом, для которого характерна высокая частота ответа на неоадьювантную химиотерапию. В группе BRCA1-ассоциированных РМЖ трижды-негативный фенотип отмечался в 80% (12/15) случаев, в то время как в группе спорадических опухолей негативная экспрессия 3

маркеров (ER, PR, HER2) наблюдалась лишь у 25.5% (57/224) больных ($p = 0.0001$). Кроме того, в BRCA1-опосредованных опухолях чаще отсутствовала экспрессия ER (86.7% (13/15) против 39.2% (88/225), $p=0.0005$), PR (80.0% (12/15) против 46.7% (105/225), $p=0.0154$) и HER2 (80.0% (12/15) против 25.5% (57/225), $p=0.0001$) по сравнению со спорадическими РМЖ. Полученные данные соответствуют наблюдениям, представленными другими авторами [63, 137]. Проведение патоморфологического исследования препарата опухоли после НАХТ является эффективной и удобной моделью изучения чувствительности опухоли к различным лекарственным агентам. Полный патоморфологический ответ опухоли свидетельствует об особой восприимчивости опухолевых клеток к лекарственному препарату, что сопровождается улучшением показателей продолжительности жизни пациенток.

В нашем исследовании общая частота полного патоморфологического регресса без учёта режима применяемой химиотерапии среди пациенток РМЖ с мутациями BRCA1 составила 31.6% (6/19), и оказалась значительно выше, чем в группе больных с опухолями без мутаций – 11.6% (46/395), $p = 0.0217$. Наблюдаемая среди BRCA1-ассоциированных карцином доля ППО оказалась несколько ниже, чем в других исследованиях [20, 29, 42, 159], но при этом соответствуют наблюдениям, представленным Wang et al., 2015. По данным Arun et al., 2011, ППО после антрациклин-таксан содержащей НАХТ был достигнут у 46% (26/57) BRCA1-ассоциированных больных РМЖ. В исследовании Vignon et al., 2018, частота ППО после антрациклин-содержащей НАХТ среди больных с мутацией BRCA1 составила 38.3%. Данная вариативность может быть объяснена разным набором схем и циклов неoadьювантной лекарственной терапии, которую получали больные РМЖ.

Полный патоморфологический регресс опухоли молочной железы встречался достоверно чаще в карциномах с отрицательной экспрессией ER ($p = 0.023$), отрицательной экспрессией PR ($p = 0.007$), трижды-негативным статусом новообразования ($p = 0.003$). Полученные данные соответствуют наблюдениям, представленным Arun et al., 2011. Таким образом, опухоли больных РМЖ с

трижды-негативным фенотипом характеризуется особой чувствительностью к НАХТ и высокой вероятностью достижения ППО.

Выполненное исследование предоставляет дополнительные данные, указывающие на существование отличий в морфологии BRCA1-ассоциированного и «спорадического» рака молочной железы. Выявленные особенности необходимо учитывать при отборе больных для молекулярного тестирования и подготовке клинических исследований.

Рак яичника

В данной работе был проведён анализ морфологических особенностей BRCA1-ассоциированных опухолей в сравнении с контрольной группой пациенток без мутации.

В целом, частота мутаций в гене BRCA1 при РЯ достигла очень высокого показателя – 18.3% (29/158). Средний возраст больных с мутацией BRCA1 составил 51 год. В 100% случаев выявлена серозная карцинома высокой степени злокачественности. Полученные данные соответствуют наблюдениям, представленным в крупнейшем исследовании Mavaddat et al., 2012.

Уменьшение объема опухоли и увеличение вероятности полной и потенциально менее травматичной хирургической резекции является основанием для проведения НАХТ. Это существенно при терапии серозного рака яичников высокой степени злокачественности, при котором уровень ответа на платиносодержащую химиотерапию первой линии составляет около 75%. Полное хирургическое удаление всех макроскопических опухолевых масс является критическим прогностическим фактором [58]. Естественное течение РЯ ассоциировано с вовлечением в опухолевый процесс большого сальника. Полная гибель опухолевых масс в большом сальнике под влиянием НАХТ приводит к понижению стадии заболевания при патоморфологическом стадировании удалённого операционного препарата. Поэтому тщательная документация полного регресса опухолевых масс сальника оказывается важнее результата

оценки регресса первичной опухоли. Ferron et al., 2009, установили, что ППО с отсутствием жизнеспособных опухолевых клеток в хирургическом образце перитонеума встречается у 14% пациентов среди больных с полным макроскопическим отсутствием резидуальной опухоли (оценивалось хирургом интраоперационно) и коррелирует с бессобытийной выживаемостью. В то же время, степень патоморфологического ответа (фиброз, некроз, митотический индекс) не коррелировала с показателями продолжительности жизни [68]. Bohm et al., 2015, показали, что полный и почти полный патологический ответ метастазов большого сальника (CRS 3) (CRS, chemotherapy response score) ассоциировался со значительным увеличением времени до прогрессирования (18 против 12 мес., $p < 0.001$) и снижением риска развития платинорезистентного рецидива ($p < 0,001$) по сравнению с менее химиочувствительными опухолями со степенью регресса CRS1-2. Исследователи также показали, что выделение трёх степеней патоморфологического ответа опухоли после НАХТ воспроизводимо на практике [32].

Шкала, предложенная Bohm (CRS), была успешно апробирована другими научными коллективами. Lee et al., 2017, установили, что у больных РЯ с CRS 1-2 по шкале Bohm et al., 2015, период до прогрессирования был статистически достоверно короче, чем у больных РЯ с CRS 3 (15 против 19 мес., $p = 0.016$) [125]. Coghlan et al., 2017, получили сходные результаты: у больных РЯ со степенью регресса 3 по Bohm et al., 2015, время до прогрессирования было существенно больше по сравнению с больными РЯ со степенями регресса 1 и 2 (26 против 16 мес., $p = 0.032$) [47].

В настоящем исследовании впервые представлены результаты оценки гистопатологического регресса BRCA1-ассоциированных карцином яичника после НАХТ. Установлено, что в группе BRCA1-ассоциированных опухолей частота умеренных и выраженных патологических ответов существенно выше по сравнению с контрольной группой (86.2% (25/29) против 53.3% (65/122), $p = 0.0013$).

Впервые оценена длительность бесплатинового интервала в оптимально прооперированных BRCA1-ассоциированных карциномах в зависимости от степени регресса первичной опухоли и метастазов большого сальника. Для выполнения данного фрагмента работы из анализа были исключены больные с неоптимальным или субоптимальным объёмом циторедукции, поскольку наличие видимых, неудаляемых по объективным причинам остаточных опухолевых масс в брюшной полости может оказывать непосредственное влияние на длительность бесплатинового интервала.

При наследственных опухолях наблюдался более длительный бесплатиновый интервал, чем при спорадических: 12.4 против 5.6 мес., $p = 0.067$. Эти различия достигли статистической достоверности при сравнении BRCA1+ и BRCA1- опухолей с разными степенями регресса первичной опухоли. Длительность бесплатинового интервала в группе оптимально прооперированных BRCA1-ассоциированных карцином со степенью регресса 3 первичной опухоли была существенно выше по сравнению с аналогичной группой спорадических опухолей (11.25 против 2.4 мес., $p = 0.049$). Та же тенденция сохранялась при объединении случаев с умеренной (2) и выраженной (3) степенью регресса в одну группу: медиана длительности бесплатинового интервала составила 4.1 мес. при ненаследственных и 12.4 мес. – при BRCA1-опосредованных РЯ ($p = 0.025$).

Следует отметить, что в группе оптимально прооперированных наследственных опухолей степень регресса 1 первичной опухоли не встречалась, что свидетельствует об их особой чувствительности к платиносодержащей цитостатической терапии.

Длительность бесплатинового интервала во всех оптимально прооперированных РЯ (т.е. во всей исследованной группе - без подразделения на BRCA1-ассоциированные и спорадические карциномы) достоверно не отличалась при разных степенях регресса первичной опухоли. Таким образом, можно заключить, что определение гистопатологического регресса первичной опухоли яичника при РЯ после неoadьювантной химиотерапии не обладает прогностической ценностью. Провести полноценный анализ изолированной

группы BRCA1-ассоциированных опухолей в этом отношении оказалось невозможным, поскольку среди пациенток с оптимально прооперированным BRCA1-опосредованным РЯ не было случаев с низким регрессом (1 степени) первичной опухоли. Бесплатиновый интервал в BRCA1-опосредованных опухолях со степенью регресса 2 и 3 достоверно не отличался ($p = 0.859$).

В то же время, степень регресса метастазов сальника ассоциировалась с продолжительностью бесплатинового интервала как среди всех проанализированных случаев РЯ, так и среди BRCA1-опосредованных карцином. В частности, медиана длительности бесплатинового интервала в оптимально прооперированных BRCA1-ассоциированных РЯ со степенью регресса 1 метастазов сальника после НАХТ была ниже по сравнению с аналогичными РЯ со 2-й степенью регресса (2.85 против 22.3 мес., $p = 0.009$).

Небольшое количество наблюдений со степенью регресса 3 метастазов сальника ($n = 2$) среди спорадических РЯ не позволило провести статистическое сравнение с группами регресса 1 и 2. При этом медианы продолжительности бесплатинового интервала при РЯ со степенью регресса 1 и 2 были сопоставимы между собой: 4.6 и 4.0 мес. соответственно. В то же время, 2 наблюдения спорадического РЯ со степенью регресса 3 характеризовались очень высокой продолжительностью бесплатинового интервала (11.1 и 31.4 мес.), что даёт основания предполагать наличие ассоциации между длительностью бесплатинового интервала и степенью регресса метастазов сальника и в этой группе.

На примере группы, в которой изучался регресс метастазов сальника, также удалось продемонстрировать отличия между наследственным и спорадическим РЯ. Так, продолжительность бесплатинового интервала была существенно выше в BRCA1-ассоциированных РЯ с умеренным и выраженным регрессом метастазов большого сальника после НАХТ по сравнению с аналогичной группой спорадических опухолей (18.6 против 5.1 мес., $p = 0.019$). Данные результаты подтверждают сделанные наблюдения о наибольшей продолжительности бесплатинового интервала среди BRCA1-позитивных больных РЯ.

Резистентность опухолей яичника к системной лекарственной терапии является главной причиной низкой эффективности лечения рака яичников. Считается, что формирование нечувствительных к терапии клонов требует продолжительного времени, от нескольких месяцев до нескольких лет [76]. В нашей работе мы демонстрируем, что исчезновение BRCA1-дефицитных опухолевых клеток в РЯ может произойти в течение всего трёх циклов НАХТ. За это время опухолевая масса быстро замещается BRCA1-профицитными клонами опухоли. До начала терапии BRCA1-профицитные клетки редко обнаруживаются в опухолях с утратой гетерозиготности гена BRCA1, поэтому наиболее вероятно, что гибель платино-чувствительных клеток сопровождается очень быстрой пролиферацией платино-устойчивых клонов с образованием видимой опухолевой массы в течение короткого периода времени. Недавние исследования демонстрируют активное взаимодействие между лекарственно-чувствительными и резистентными клонами во время терапии. Гибнущие опухолевые клетки могут секретировать молекулы, вызывающие пролиферацию небольшой группы лечебно-рефрактерных клеток [155].

Восстановление функции BRCA1 при появлении резистентности к препаратам платины или ингибиторам PARP было продемонстрировано несколькими исследователями [55, 195]. В перечисленных выше исследованиях принимали участие пациентки, которые перенесли несколько линий противоопухолевой терапии. В этих работах было продемонстрировано восстановление функции BRCA1 посредством появления дополнительных мутаций в генах BRCA1/2. Эти «вторичные» мутации располагаются вблизи «первичного» дефекта нуклеотидной последовательности гена BRCA1/2. Они восстанавливают «открытую рамку считывания», в результате чего образуется функциональный белок BRCA1/2, несущий лишь небольшие отличия от аллеля дикого типа. Другие платинорезистентные опухоли характеризовались полным восстановлением нормальной последовательности BRCA1/2 за счёт появления «обратных» мутаций [55, 195]. Примечательно, что подавляющее большинство

случаев восстановления функции BRCA1/2 за счёт дополнительных генетических событий зафиксировано для гена BRCA2, а не BRCA1.

В отличие от перечисленных выше исследований, мы анализировали опухоли, которые подверглись экспозиции лишь нескольким циклам неoadьювантной химиотерапии. Мы приводим убедительные доказательства того, что наличие BRCA1 дикого типа в опухолевых массах, удаленных после неoadьювантной терапии, может быть объяснено не появлением второй мутации, а селекцией предсуществовавших BRCA1-профицитных клеток. Этот вывод согласуется с исследованием Martins et al., 2012, и показывает, что соматическая делеция аллеля дикого типа BRCA1 не обязательно является самым первым событием в BRCA1-опосредованном канцерогенезе и что BRCA1-ассоциированные опухоли часто содержат некоторую долю злокачественных клеток с сохранённой функцией BRCA1[138].

Таким образом, BRCA1-ассоциированный РЯ представляет особую группу опухолей, характеризующейся высокой чувствительностью к платиносодержащей НАХТ с наилучшими показателями продолжительности бесплатинового интервала.

Рак желудка

Современные возможности лекарственного лечения РЖ носят ограниченный характер и позволяют достичь объективных эффектов лишь в трети случаев, а медиана общей продолжительности жизни не превышает 7-12 мес. [212]. Выбор лекарственного лечения осложняется отсутствием надежных предиктивных факторов эффективности терапии.

В ходе настоящего исследования была оценена встречаемость наследственных дефектов BRCA1 при РЖ и проведён анализ морфологических и иммуногистохимических особенностей BRCA1-ассоциированных опухолей. Частота наследственных повреждений BRCA1 оказалась достаточно высокой: в группе из 65 больных было обнаружено 2 случая (3%) носительства мутации. В

обоих случаях в опухоли наблюдалась потеря аллеля дикого типа, что подтверждает BRCA1-зависимый характер новообразований у этих больных. Возраст двух пациенток с мутацией BRCA1 составил 60 лет и 62 года. По данным гистологического исследования, у обеих пациенток подтверждены опухоли желудка железистого происхождения (аденокарцинома высокой и низкой степени дифференцировки). В обоих случаях присутствовали метастазы в печени, отмечалось метастатическое поражение 4 анатомических областей.

Два изученных BRCA1-опосредованных случая не имели специфических морфологических признаков, однако небольшое количество наблюдений не позволяет сделать окончательных выводов о наличии или отсутствии морфологических особенностей BRCA1-ассоциированного РЖ.

Обнаруженная частота мутаций BRCA1 при РЖ (3%) сопоставима с таковой при РМЖ (4.6%), что позволяет включить опухоли желудка в спектр BRCA1-опосредованных заболеваний и указывает на необходимость генетического тестирования при РЖ. Заслуживают особого внимания хорошие результаты химиотерапевтического лечения обеих больных: продолжительность жизни с момента начала лекарственной терапии составила 15 и 31 мес. соответственно. В одном случае лекарственная терапия включала в себя комбинацию препаратов платины и фторпиримидинов (10 циклов химиотерапии по схеме CF - цисплатин 100 мг/м² в 1-й день цикла + 5-фторурацил 1000 мг/м² суточные инфузии с 1-ого по 5-й дни цикла), во втором наблюдении сочетание антрациклинов, препаратов платины и фторпиримидинов (18 циклов химиотерапии по схеме ECF - доксорубин 40 мг/м² в 1-й день цикла + цисплатин 60 мг/м² в 1-й день цикла + 5-фторурацил 1000 мг/м² суточные инфузии с 1-ого по 5-й дни цикла). Pyyhönen et al., 1995, в рандомизированном исследовании показали, что продолжительность жизни больных нерезектабельным метастатическим раком желудка на фоне поддерживающей терапии составляет в среднем 3 мес., на фоне химиотерапии - 12 мес. [170].

С учётом результатов исследований, выполненных при BRCA1-ассоциированном РМЖ [37], можно предположить высокую чувствительность

BRCA1-ассоциированного рака желудка к цисплатину в монорежиме и PARP-ингибиторам. Применение монотерапии цисплатином или PARP-ингибиторами при наличии мутации могло бы позволить избежать излишней токсичности комбинированных режимов химиотерапии.

Редкие случаи BRCA1-ассоциированных опухолей

Карциносаркома молочной железы является редко встречающейся опухолью. В литературе описаны единичные BRCA1-ассоциированные случаи редких гистологических типов РМЖ. Например, Ashida et al., 2000, описал случай медуллярной карциномы молочной железы с хрящевой метаплазией (признаки наличия бифазности строения) и низкой степенью дифференцировки (G3) у больной 34 лет с отсутствием семейного анамнеза [21]. Опухоль размером 1,5 см характеризовалась положительным статусом ER, а экспрессия PR и HER2 была негативной. Нами представлен случай карциносаркомы, которая при иммуногистохимическом исследовании демонстрировала трижды негативный статус ER, PR, HER2. Важно, что в этой опухоли была обнаружена биаллельная инактивации гена BRCA1.

Помимо этого, нами описан случай BRCA1-ассоциированного карциноида лёгкого у носительницы мутации в гене BRCA1, который возник через 8 месяцев после окончания цитостатической терапии по поводу РЯ. Это первое наблюдение в мире BRCA1-ассоциированной нейроэндокринной опухоли лёгкого. Механизмы развития и прогрессии карциноидов лёгкого являются предметом исследования. В частности, причиной развития опухоли считаются специфические мутации гена MEN1 в лёгочных нейроэндокринных клетках [206].

Таким образом, некоторые редко встречающиеся BRCA1/2-ассоциированные опухоли имеют неспецифическую морфологическую картину, которая не позволяет селективировать группу больных для проведения молекулярно-генетического исследования мутаций BRCA1. Важно, что установление BRCA1-зависимой природы опухоли позволяет использовать дополнительные опции в выборе индивидуализированной лекарственной терапии.

ВЫВОДЫ

1. Иммуногистохимические характеристики BRCA1-ассоциированного рака молочной железы отличаются от спорадических опухолей отсутствием экспрессии ER (13/15 (87%) против 88/225 (39%), $p = 0.0005$), PR (12/15 (80%) против 105/225 (47%), $p = 0.0154$) и HER2 (12/15 (80%) против 57/225 (25%), $p = 0.0001$). Карциномы молочной железы, возникающие у носительниц мутаций в гене BRCA1, характеризуются неспецифическим (дуктальным) гистологическим типом (100% наблюдений) и низкой степенью дифференцировки (67% случаев).

2. Каждый пятый случай рака яичника (РЯ) связан с носительством мутации в гене BRCA1 (29/158, 18%). Пациентки с BRCA1-ассоциированным раком яичника характеризуются более молодым возрастом на момент постановки диагноза по сравнению со спорадическими новообразованиями (51 год (диапазон значений: 32 - 74 года; $n = 29$) против 57 лет (диапазон значений: 19 - 80 лет; $n=129$); $p = 0.005$). Во всех случаях BRCA1-ассоциированные опухоли яичника были представлены серозными карциномами высокой степени злокачественности.

3. Неoadьювантная химиотерапия в группе BRCA1-ассоциированных карцином яичника сопровождается значительно более высокой частотой умеренных и выраженных патологических ответов первичной опухоли по сравнению с ненаследственными опухолями (25/29 (86.2%) против 65/122 (53.3%), $p = 0.0013$).

4. Определение патоморфологического регресса метастазов сальника после неoadьювантной химиотерапии в группе BRCA1-ассоциированных РЯ обладает прогностической значимостью. Длительность бесплатинового интервала у больных РЯ с минимальной степенью ответа (степень регресса 1) значительно ниже по сравнению с группой умеренного или выраженного ответа (2+3) (2,8 мес. (диапазон значений: 1 – 12.4 мес.; $n = 4$) против 18.6 мес. (диапазон значений: 3.8 – 52.5 мес.; $n = 10$), $p = 0.024$).

5. Соматическая утрата оставшегося аллеля гена BRCA1 установлена в 17/23 (74%) хемонаивных BRCA1-ассоциированных РЯ, что объясняет их чувствительность к платиносодержащей терапии.

6. Неoadъювантная химиотерапия рака яичника зачастую сопровождается восстановлением функции гена BRCA1: реверсия статуса потери гетерозиготности наблюдалась в 11/17 (65%) случаев, что можно объяснить быстрой экспансией предсуществующих BRCA1-профицитных опухолевых клонов. Это явление объясняет низкую частоту полных морфологических регрессов РЯ, а также высокий риск рецидива заболевания.

7. Выполнение теста на соматическую потерю гетерозиготности для опухолей, которые возникли у носительниц мутаций в гене BRCA1, но при этом не считаются частью BRCA1-ассоциированного синдрома, выявило утрату нормальной копии данного гена в 2 случаях опухолей желудка, 1 наблюдении карциноида лёгкого и 1 случае карциносаркомы молочной железы. Таким образом, тест на потерю гетерозиготности оставшегося аллеля BRCA1 является эффективным способом выявления причастности наследственных мутаций в гене BRCA1 к патогенезу тех или иных новообразований.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Решение о целесообразности BRCA1-тестирования должно приниматься не только на основе клинических признаков наследственного рака (наличие семейного онкологического анамнеза, молодой возраст пациентки и т.д.), но и по результатам морфологического исследования опухоли. В частности, высокая частота мутаций в гене BRCA1 наблюдается при трижды-негативном раке молочной железы, а также у пациенток с серозными карциномами яичника высокой степени злокачественности.

2. Рекомендуется определение патоморфологического регресса метастазов большого сальника после неoadъювантной химиотерапии BRCA1-ассоциированных опухолей яичника, т.к. наличие умеренного и выраженного ответа ассоциируется с наилучшими показателями продолжительности бесплатинового интервала.

3. При возникновении редких разновидностей новообразований у носителей мутаций в гене BRCA1 рекомендован анализ опухолевой ткани на предмет соматической утраты оставшегося аллеля. Этот тест помогает установить причастность BRCA1-гетерозиготности к патогенезу изучаемой опухоли и обосновать целесообразность назначения BRCA1-специфической терапии.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Изучение BRCA1-опосредованных новообразований может быть продолжено в нескольких направлениях. В диссертационном исследовании было обнаружено, что около 3% рака желудка обусловлено носительством наследственных мутаций. В работе была изучена относительно небольшая по объему выборка (65 случаев), которая была протестирована на наличие только одной, самой частой среди российских пациентов мутации в гене BRCA1 – 5382insC. Представляется необходимым исследование частоты этой и других распространенных в нашей стране мутаций BRCA1 (BRCA1 4153delA [с.4034delA], BRCA1 185delAG [с.68_69delAG]) на большей независимой выборке больных раком желудка. Также требует подтверждения наблюдение о лучшем эффекте химиотерапии у пациентов-носителей наследственных дефектов BRCA1.

Ещё одним направлением дальнейшей работы может стать изучение наследственных мутаций BRCA1 и ассоциированных с ними клинических и морфологических особенностей при раке предстательной железы, поджелудочной железы, серозном раке тела матки, а также оценка потенциальных возможностей платиносодержащей химиотерапии у данных групп больных.

Особого внимания заслуживает вопрос о динамике внутриопухолевых молекулярных и морфологических изменений под воздействием лекарственной терапии, в частности изменение статуса гетерозиготности гена BRCA1 после платиносодержащей или иной ДНК-повреждающей терапии.

Отдельного внимания заслуживает группа спорадических карцином яичника с выраженным патоморфологическим регрессом опухоли после неoadьювантной химиотерапии. Высокая эффективность платиносодержащей химиотерапии косвенно свидетельствует о значительной вероятности наличия иных молекулярных повреждений систем репарации ДНК. Поэтому планируется изучение молекулярных особенностей данной группы новообразований с целью поиска новых маркеров эффективности химиотерапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреева Ю.Ю., Данилова Н.В., Завалишина Л.Э. и др. Рак молочной железы. Практическое руководство для врачей. – М.: Практическая медицина, 2014. – 176 с.
2. Андреева Ю.Ю., Москвина Л.В., Березина Т.А. и др. Методика исследования операционного материала при раке молочной железы после неoadьювантной терапии для оценки остаточной опухолевой нагрузки (по системе RCB) // Архив патологии. – 2016. – № 2. – С. 41-46.
3. Анурова О.А. Клинические рекомендации по диагностике и лечению больных раком желудка / О.А. Анурова, Н.С. Бесова, М.Ю. Бяхов. – М., 2014. – 26 с.
4. Давыдов М.И. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г. / М.И. Давыдов, Е.М. Аксель. – М., 2014. – 226 с.
5. Каприн А.Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2015 году / А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. – М.: «МНИОИ им. П.А. Герцена», филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2016. – 236 с.
6. Коржевский Д.Э. Применение гематоксилина в гистологической технике // Морфология. – 2007. – Т. 132. – № 6. – С. 77-81.
7. Имянитов Е.Н. Общие представления о наследственных опухолевых синдромах // Практическая онкология. – 2014. – Т. 15. – № 3. – С. 101-106.
8. Любченко Л.Н. Генетическое тестирование при наследственном раке молочной железы // Практическая онкология. – 2014. – Т. 15. – № 3. – С. 107-117.
9. Орлова Р.В. Лекарственное лечение опухолей желудочно-кишечного тракта // Практическая онкология. – 2005. – Т. 6. – № 1. – С. 33-42.
10. Саркисов Д.С. Очерки истории общей патологии/ АМН СССР. – М.: Медицина, 1988. – 336 с.
11. Суспицын Е.Н. Наследственные опухолевые синдромы. – СПб, 2013. – 27 с.

12. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2007 году. – М., 2008. – 180 с.
13. Alexandre J., Ray-Coquard I., Selle F. et al. GINECO. Mucinous advanced epithelial ovarian carcinoma: clinical presentation and sensitivity to platinum-paclitaxel-based chemotherapy, the GINECO experience // *Ann. Oncol.* – 2010. – Vol. 21. – P. 2377-2381.
14. Alsop K., Fereday S., Meldrum C. et al. BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in BRCA mutation-positive women with ovarian cancer: a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group // *J. Clin. Oncol.* – 2012. – Vol. 30(21). – P. 2654-2663.
15. Antoniou A., Pharoah P.D., Narod S. et al. Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies // *Am. J. Hum. Genet.* – 2003. – Vol. 72. – P. 1117-1130.
16. Apple S.K., Suthar F. How do we measure a residual tumor size in histopathology (the gold standard) after neoadjuvant chemotherapy? // *Breast.* – 2006. – Vol. 15. – P. 370–376.
17. Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe (AGO), Accessed 30 October 2014. – <http://www.ago-online.de/de/fuer-mediziner/leitlinien/mamma/en/>.
18. Armes J., Egan A., Southey M. et al. The histologic phenotypes of breast carcinoma occurring before age 40 years in women with and without BRCA1 or BRCA2 germline mutations: a population-based study // *Cancer.* – 1998. – Vol. 83(11). – P. 2335-2345.
19. Armstrong D.K. Relapsed ovarian cancer: challenges and management strategies for a chronic disease // *Oncologist.* – 2002. – Vol. 7(suppl. 5). – P. 20-28.
20. Arun B., Bayraktar S., Liu D. et al. Response to neoadjuvant systemic therapy for breast cancer in BRCA mutation carriers and noncarriers: a single-institution experience // *J. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 29(28). – P. 3739-3746.

21. Ashida A., Fukutomi T., Tsuda H. et al. Atypical medullary carcinoma of the breast with cartilaginous metaplasia in a patient with a BRCA1 germline mutation *Jpn // J. Clin. Oncol.* – 2000. – Vol. 30(1). – P. 30-32.
22. Atchley D., Albarracin C., Lopez A. et al. Clinical and pathologic characteristics of patients with BRCA-positive and BRCA-negative breast cancer // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – Vol. 26. – P. 4282-4288.
23. Balmana J., Diez O., Rubio I.T., Cardoso F. ESMO Clinical Practice Guidelines on BRCA in breast cancer includes chapters on referral for BRCA testing, mutation detection, risk reduction options, breast cancer risk modifiers, and breast cancer treatment in BRCA carriers // *Ann. Oncol.* – 2011. – Vol. 22(Suppl 6). – P. vi31-vi34.
24. Bang Y.J., Van Cutsem E., Feyereislova A. et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (toGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial // *Lancet.* – 2010. – Vol. 376. – P. 687-697.
25. Begg C.B. et al. Variation of breast cancer risk among BRCA1/2 carriers // *JAMA.* – 2008. – Vol. 299(2). – P. 194–201.
26. Bermejo Lorenzo J, Hemminki K. Risk of cancer at sites other than the breast in Swedish families eligible for BRCA1 or BRCA2 mutation testing // *Annals of Oncology.* – 2004. – Vol. 15. – P.1834 1841.
27. Berrino F. The EURO CARE Study: strengths, limitations and perspectives of populationbased, comparative survival studies // *Ann Oncol.* – 2003. – Vol. 14(suppl. 5). – P. 913.
28. Berx G., Becker K., Hufner H., van Roy F. Mutations of the human E cadherin gene (CDH1) // *Hum. Mutat.* – 1998. – Vol. 12. – P. 226 237.
29. Bignon L., Fricker J., Nogues C. et al. Efficacy of anthracycline/taxane-based neo-adjuvant chemotherapy on triple-negative breast cancer in BRCA1/BRCA2 mutation carriers // *Breast J.* – 2018. – Vol. 24(3). – P. 269-277.
30. Biron-Shental T., Drucker L., Altaras M. et al. High incidence of BRCA1-2 germline mutations, previous breast cancer and familial cancer history in Jewish

patients with uterine serous papillary carcinoma // *Eur. J. Surg. Oncol.* – 2006. – Vol. 32(10). – P. 1097-100.

31. Bittoni A., Maccaroni E., Scartozzi M. et al. Chemotherapy for locally advanced and metastatic gastric cancer: state of the art and future perspectives // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2010. – Vol. 14. – № 4. – P. 309-314.

32. Bohm S., Faruqi A., Said I. et al. Chemotherapy response score: development and validation of a system to quantify histopathologic response to neoadjuvant chemotherapy in tubo-ovarian high-grade serous carcinoma // *J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 33. – P. 2457-2463.

33. Breast Cancer Linkage Consortium. Pathology of familial breast cancer: differences between breast cancer in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations and sporadic cases // *Lancet.* – 1997. – Vol. 349. – P. 1505–1510.

34. Broët P., de la Rochefordière, Scholl S.M. et al. Contralateral breast cancer: annual incidence and risk parameters // *J. Clin. Oncol.* – 1995. – Vol. 13. – P. 1578-1583.

35. BrooksWilson A., Kaurah P., Suriano G. et al. Germline E cadherin mutations in hereditary diffuse gastric cancer: assessment of 42 new families and review of genetic screening criteria // *J. Med. Genet.* – 2005. – Vol. 41. – P. 508-517.

36. Bruchim I., Amichay K., Kidron D. et al. BRCA1/2 germline mutations in Jewish patients with uterine serous carcinoma // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2010. – Vol. 20(7). – P. 1148-1153.

37. Byrski T., Gronwald J., Huzarski T. et al. Pathologic complete response rates in young women with BRCA1-positive breast cancers after neoadjuvant chemotherapy // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 28. – № 3. – P. 375-379.

38. Camp R., Charette L., Rimm D. Validation of tissue microarray technology in breast carcinoma // *Lab Invest.* – 2000. – Vol. 80(12). – P. 1943-1949.

39. Cancer Genome Atlas Research Network Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma // *Nature.* – 2011. – Vol. 474(7353). – P. 609-615.

40. Carey L. Targeted chemotherapy? Platinum in BRCA1-dysfunctional breast cancer // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 28. – № 3. – P. 361-363.

41. Castro E., Goh C., Olmos D. et al. Germline BRCA mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis, and poor survival outcomes in prostate cancer // *J. Clin. Oncol.* – 2013. – Vol. 31(14). – P. 1748-1757.
42. Chappuis P.O., Goffin J., Wong N. et al. A significant response to neoadjuvant chemotherapy in BRCA1/2 related breast cancer // *J. Med. Genet.* – 2002. – Vol. 39. – P. 608-610.
43. Chevallier B., Roche H., Olivier J.P. et al. Inflammatory breast cancer. Pilot study of intensive induction chemotherapy (FEC-HD) results in a high histologic response rate // *Am. J. Clin. Oncol.* – 1993. – Vol. 16. – P. 223-228.
44. Chollet P., Abrial C., Durando X. et al. A new prognostic classification after primary chemotherapy for breast cancer: residual disease in breast and nodes (RDBN) // *Cancer J.* – 2008. – Vol. 14. – P.128–132.
45. Chollet P., Amat S., Belembaogo E. et al. Is Nottingham prognostic index useful after induction chemotherapy in operable breast cancer? // *Br. J. Cancer.* – 2003. – Vol. 89. – P. 1185–1191.
46. Chung J., Braunschweig T., Williams R. et al. Factors in Tissue Handling and Processing That Impact RNA Obtained From Formalin-fixed, Paraffin-embedded Tissue // *J. Histochem. Cytochem.* – 2008. – Vol. 56(11). – P. 1033–1042.
47. Coghlan E., Meniawy T., Munro A. et al. Prognostic Role of Histological Tumor Regression in Patients Receiving Neoadjuvant Chemotherapy for High-Grade Serous Tubo-ovarian Carcinoma // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2017. – Vol. 27(4). – P. 708-713.
48. Coleman M.P. Cancer survival in Australia, Canada, Denmark, Norway, Sweden and the UK, 1995 – 2007 (the International Cancer Benchmarking 154 Partnership): an analysis of population-based cancer registry data // *Lancet.* – 2011. – Vol. 377(9760). – P. 127–138.
49. College of American Pathologists. Protocol for the Examination of Specimens from Patients with Invasive Carcinoma of the Breast, 2012. - http://www.cap.org/apps/docs/committees/cancer/cancer_protocols/2012/BreastInvasive_12protocol_3100.pdf.

50. Corben A.D., Abi-Raad R., Popa I. et al. Pathologic response and long-term follow-up in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy: a comparison between classifications and their practical application // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2013. – Vol. 137. – P. 1074–1082.

51. Cortazar P., Zhang L., Untch M. et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis // *Lancet.* - 2014. – Vol. 384. – P. 164–172.

52. Crew K.D., Neugut A.I. Epidemiology of gastric cancer // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 12. – P. 354-362.

53. Daly P.A. Hereditary cancer: guidelines in clinical practice—general overview // *Ann Oncol.* – 2004. – Vol. 15 (Suppl. 4). – iv1215.

54. Dann R.B., DeLoia J.A., Timms K.M. et al. BRCA1/2 mutations and expression: response to platinum chemotherapy in patients with advanced stage epithelial ovarian cancer // *Gynecol. Oncol.* – 2012. – Vol. 125. – P. 677-682.

55. Dhillon K., Swisher E., Taniguchi T. Secondary mutations of BRCA1/2 and drug resistance // *Cancer. Sci.* – 2011. – Vol.102(4) . – P. 663-9.

56. Dieras V., Fumoleau P., Romieu G. et al. Randomized parallel study of doxorubicin plus paclitaxel and doxorubicin plus cyclophosphamide as neoadjuvant treatment of patients with breast cancer // *J. Clin. Oncol.* – 2004. – Vol. 22. – P. 4958–4965.

57. Domchek S.M., Friebel T.M., Singer C.F. et al. Association of risk-reducing surgery in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers with cancer risk and mortality // *JAMA.* – 2010. – Vol. 304(9). – P. 967-975.

58. du Bois A., Reuss A., Pujade-Lauraine E. et al. Role of surgical outcome as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer: a combined exploratory analysis of 3 prospectively randomized phase 3 multicenter trials: by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe Ovarialkarzinom (AGO-OVAR) and the Groupe d'Investigateurs Nationaux Pour les Etudes des Cancers de l'Ovaire (GINECO) // *Cancer.* – 2009. – Vol. 115. – P. 1234-1244.

59. Eccles D.M. Hereditary cancer: guidelines in clinical practice. Breast and ovarian cancer genetics // *Ann. Oncol.* – 2004. – Vol. 15 (Suppl 4). – iv1338.
60. Eisinger F., Jacquemier J., Charpin C. et al. Mutations at BRCA1: the medullary breast carcinoma revisited // *Cancer Res.* – 1998. – Vol. 58(8). – P. 1588-1592.
61. Eisinger F., Stoppa-Lyonnet D., Longy M. et al. Germ line mutation at BRCA1 affects the histoprognostic grade in hereditary breast cancer // *Cancer Res.* – 1996. – Vol. 56. – P. 471-474.
62. Esserman L.J., Woodcock J. Accelerating identification and regulatory approval of investigational cancer drugs // *JAMA.* – 2011. – Vol. 306. – P. 2608–2609.
63. Evans D., Lalloo F., Howell S. et al. Low prevalence of HER2 positivity amongst BRCA1 and BRCA2 mutation carriers and in primary BRCA screens // *Breast Cancer Res Treat.* – 2016. – Vol. 155(3). – P. 597-601.
64. Evans T. Differential trends in the rising incidence of endometrial cancer by type: data from a UK population-based registry from 1994 to 2006 // *British Journal of Cancer.* – 2011. – Vol. 104. – № 9. – P. 1505-1510.
65. Fan F. Evaluation and reporting of breast cancer after neoadjuvant chemotherapy // *Open Pathol. J.* – 2009. – Vol. 3. – P. 58-63.
66. Ferla R. et al. Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes // *Annals of Oncology.* – 2007. – Vol. 18(Suppl 6). – P. 93-98.
67. Ferlay J., Soerjomataram I., Ervik M. et al. GLOBOCAN, 2012 v. 1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet].
68. Ferron J.G., Uzan C., Rey A. et al. Histological response is not a prognostic factor after neoadjuvant chemotherapy in advanced-stage ovarian cancer with no residual disease // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2009. – Vol. 147. – P. 101-105.
69. Ferrone C., Levine D., Tang L. et al. BRCA germline mutations in Jewish patients with pancreatic adenocarcinoma // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 27. – P. 433–438.

70. Fitzgerald R., Hardwick R., Huntsman D. et al. International Gastric Cancer Linkage Consortium. Hereditary diffuse gastric cancer: updated consensus guidelines for clinical management and directions for future research // *J. Med. Genet.* – 2010. – Vol. 47. – P. 436-444.
71. Ford D., Easton D.F., Bishop D.T. et al. Risks of cancer in BRCA1 mutation carriers // *Breast Cancer Linkage Consortium // Lancet.* – 1994. – Vol. 343. – P. 692-695.
72. Ford D., Easton D. F., Stratton M. et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families // *Am. J. Hum. Genet.* – 1998. – Vol. 62. – P. 676-689.
73. Foulkes W., Metcalfe K., Sun P. et al. Estrogen receptor status in BRCA1- and BRCA2-related breast cancer: the influence of age, grade, and histological type // *Clin Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10. – P. 2029–2034.
74. Friedenson B. BRCA1 and BRCA2 pathways and the risk of cancers other than breast or ovarian // *Med. Gen. Med.* – 2005. – Vol. 7. – № 2. – P. 60.
75. Gallagher D., Gaudet M., Pal P. et al. Germline BRCA mutations denote a clinicopathologic subset of prostate cancer // *Clin. Cancer Res.* – 2010. – Vol. 16(7). – P. 2115-2121.
76. Giannakeas V., Sopik V., Narod S. A model for ovarian cancer progression based on inherent resistance // *Gynecol. Oncol.* – 2016. – Vol. 142(3) . –P. 484-9.
77. Giusti R., Rutter J., Duray P. et al. A twofold increase in BRCA mutation related prostate cancer among Ashkenazi Israelis is not associated with distinctive histopathology // *J. Med. Genet.* – 2003. – Vol. 40(10). – P. 787-792.
78. Goethals L., Perneel C., Debucquoy A. et al. A new approach to the validation of tissue microarrays // *J. Pathol.* – 2006. – Vol. 208(5). – P. 607-614.
79. Goldstein N., Ferkowicz M., Odish E. et al. Minimum formalin fixation time for consistent estrogen receptor immunohistochemical staining of invasive breast carcinoma // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2003. – Vol. 120(1). – P. 86-92.

80. Graeser M.K., Engel C., Rhiem K. et al. Contralateral breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 27 (35). – P. 5887-5892.
81. Graffeo R., Livraghi L., Pagani O. et al. Time to incorporate germline multigene panel testing into breast and ovarian cancer patient care // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2016. – Vol. 160(3). – P. 393-410.
82. Griffiths C.T. Surgical resection of tumor bulk in the primary treatment of ovarian carcinoma // *Natl. Cancer Inst. Monogr.* – 1975. – Vol. 42. – P. 101-104.
83. Haffty B., Choi D., Goyal S. et al. Breast cancer in young women (YBC): prevalence of BRCA1/2 mutations and risk of secondary malignancies across diverse racial groups // *Ann. Oncol.* – 2009. – Vol. 20(10). – P. 1653-1659.
84. Hahnen E., Lederer B., Hauke J. et al. Germline Mutation Status, Pathological Complete Response, and Disease-Free Survival in Triple-Negative Breast Cancer: Secondary Analysis of the GeparSixto Randomized Clinical Trial // *JAMA Oncol.* – 2017.
85. Hall J.M. et al. Early-Onset Familial Breast Cancer // *Science.* – 1990. – Vol. 250. – P. 17-22.
86. Hassanein M., Huiart L., Bourdon V. et al. Prediction of BRCA1 germ-line mutation status in patients with breast cancer using histoprognosis grade, MS110, Lys27H3, vimentin, and KI67 // *Pathobiology.* – 2013. – Vol. 80(5). – P. 219-227.
87. Heerma van Voss M., van der Groep P., Bart J. et al. Lympho-vascular invasion in BRCA related breast cancer compared to sporadic controls // *BMC Cancer.* – 2010. – Vol. 16. – P. 145.
88. Helander K. Kinetic studies of formaldehyde binding in tissue // *Biotech Histochem.* – 1994. – Vol. 69(3). – P. 177-179.
89. Hess V., A'Hern R., Nasiri N. et al. Mucinous epithelial ovarian cancer: a separate entity requiring specific treatment // *J. Clin. Oncol.* – 2004. – Vol. 22. – P. 1040-1044.
90. Holschneider C.H., Berek J.S. Ovarian cancer: epidemiology, biology, and prognostic factors // *Semin Surg. Oncol.* – 2000. – Vol. 19. – P. 3-10.

91. Holter S., Borgida A., Dodd A., et al. Germline BRCA Mutations in a Large Clinic-Based Cohort of Patients With Pancreatic Adenocarcinoma // *J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 33(28). – P. 3124-3129.
92. Hussein Y., Ducie J., Arnold A. et al. Invasion Patterns of Metastatic Extrauterine High-grade Serous Carcinoma With BRCA Germline Mutation and Correlation With Clinical Outcomes // *Am J Surg Pathol.* – 2016. – Vol. 40(3). – P. 404-409.
93. Hynninen J., Lavonius M., Oksa S. et al. Is perioperative visual estimation of intra-abdominal tumor spread reliable in ovarian cancer surgery after neoadjuvant chemotherapy? // *Gynecol. Oncol.* – 2013. – Vol. 128. – P. 229-232.
94. Imyanitov E.N. et al. Isolation of Nucleic Acids from Paraffin-Embedded Archival Tissues and Other Difficult Sources. In J. Kieleczawa, ed. *DNA Sequencing II — Optimizing Preparation and Cleanup.* — Sudbury, Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers, 2006. — P. 85–97.
95. Imyanitov E., Moiseyenko V. Molecular-based choice of cancer therapy: realities and expectations // *Clin. Chim. Acta.* – 2007. – Vol. 379. – № 1-2. – P. 1-13.
96. Imyanitov E.N., Byrski T. Systemic treatment for hereditary cancers: a 2012 update // *Hereditary Cancer in Clinical Practice.* – 2013. – Vol. 11(1). – P. 2.
97. Iyevleva A.G. et al. Non-founder BRCA1 mutations in Russian breast cancer patients // *Cancer Letters.* – 2010. – Vol. 298(2). – P. 258–263.
98. Jaworowska E., Tarnowska C., Lubiński J. et al. Clinical characteristics of laryngeal cancer in BRCA-1 mutation carriers. *Anticancer Res.* – 2009. – Vol. 29(7). – P. 2703-2705.
99. Järvinen H.J. Hereditary cancer: guidelines in clinical practice. Colorectal cancer genetics // *Ann. Oncol.* – 2004. – Vol. 15 (Suppl 4). – iv12731.
100. Jóhannsson O., Idvall I., Anderson C. et al. Tumour biological features of BRCA1-induced breast and ovarian cancer // *Eur. J. Cancer.* – 1997. – Vol. 33(3). – P. 362-371.

101. Johannsson O., Loman N., Möller T. et al. Incidence of malignant tumours in relatives of BRCA1 and BRCA2 germline mutation carriers // *Eur. J. Cancer.* – 1999. – Vol. 35(8). – P. 1248-1257.

102. Karp S. et al. Influence of BRCA1 mutations on nuclear grade and estrogen receptor status of breast carcinoma in Ashkenazi Jewish women // *Cancer.* – 1997. – Vol. 80(3). – P. 435–441.

103. Kast K., Rhiem K., Wappenschmidt B. Prevalence of BRCA1/2 germline mutations in 21 401 families with breast and ovarian cancer // *J. Med. Genet.* – 2016. – Vol. 53(7). – P. 65-71.

104. Klauber-DeMore N., Ollila D.W., Moore D.T. et al. Size of residual lymph node metastasis after neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer patients is prognostic // *Ann. Surg. Oncol.* – 2006. – Vol. 13. – P. 685–691.

105. Knudson A.G. Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1971. – Vol. 68. – P. 820–823.

106. Knudson A.G. Two genetic hits (more or less) to cancer // *Nat. Rev. Cancer.* – 2001. – Vol. 1. – P. 157-162.

107. Konstantinopoulos P., Spentzos D., Karlan B. et al. Gene expression profile of BRCAness that correlates with responsiveness to chemotherapy and with outcome in patients with epithelial ovarian cancer // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 28(22). – P. 3555-3561.

108. Krylova N. Y. et al. BRCA1 4153delA founder mutation in Russian ovarian cancer patients // *Hereditary Cancer in Clinical Practice.* – 2006. – Vol. 4(4). – P. 193–196.

109. Kuligina E., Reiner A., Imyanitov E., Begg C. Evaluating cancer epidemiologic risk factors using multiple primary malignancies // *Epidemiology.* – 2010. – Vol. 21(3). – P. 366–372.

110. Kurman R.J., Shih I.M. Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer--shifting the paradigm // *Hum. Pathol.* – 2011. – Vol. 42(7). – P. 918-931.

111. Kurman R. Blaustein's pathology of the female genital tract. – 6 ed., 2011. – 1246 p.
112. Kuroi K., Toi M., Tsuda H. et al. Issues in the assessment of the pathologic effect of primary systemic therapy for breast cancer // *Breast Cancer*. – 2006. – Vol. 13. – P. 38–48.
113. Lakhani S., Jacquemier J., Sloane J. et al. Multifactorial analysis of differences between sporadic breast cancers and cancers involving BRCA1 and BRCA2 mutations // *J. Natl. Cancer Inst.* – 1998. – Vol. 90(15). – P. 1138-1145.
114. Lakhani S., Van De Vijver M., Jacquemier J. et al. The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2 // *J. Clin. Oncol.* – 2002. – Vol. 20. – P. 2310–2318.
115. Lakhani S., Reis-Filho J., Fulford L. et al. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype // *Clin. Cancer Res.* – 2005. – Vol. 11. – P. 5175–5180.
116. Lal G., Liu G., Schmocker B. et al. Inherited predisposition to pancreatic adenocarcinoma: role of family history and germ-line p16, BRCA1, and BRCA2 mutations // *Cancer Res.* – 2000. – Vol. 60. – P. 409–416.
117. Lambein K., Van de Vijver K., Faverly D. et al. Belgian guidelines for laboratory handling and pathology reporting of breast carcinoma after neoadjuvant therapy // *Belg J. Med. Oncol.* – 2011. – Vol. 5. – P. 144–153.
118. Landen C.N. Jr, Birrer M.J., Sood A.K. Early events in the pathogenesis of epithelial ovarian cancer // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – 26(6). – P. 995-1005.
119. Lavie O., Ben-Arie A., Segev Y., et al. BRCA germline mutations in women with uterine serous carcinoma--still a debate // *Int. J. Gynecol. Cancer*. – 2010. – Vol. 20(9). – P. 1531-1534.
120. Lawniczak M., Gawin A., Białek A. et al. Is there any relationship between BRCA1 gene mutation and pancreatic cancer development? // *Pol. Arch. Med. Wewn.* – 2008. – Vol. 118. – P. 645–649.

121. Le T., Shahriari P., Hopkins L. et al. Prognostic significance of tumor necrosis in ovarian cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy and interval surgical debulking // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2006. – Vol. 16. – P. 986-990.

122. Le T., Williams K., Senterman M. et al. Histopathologic assessment of chemotherapy effects in epithelial ovarian cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy and delayed primary surgical debulking // *Gynecol. Oncol.* – 2007. – Vol. 106. – P. 160-163.

123. Le T., Williams K., Senterman M. et al. Omental chemotherapy effects as a prognostic factor in ovarian cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy and delayed primary surgical debulking // *Ann. Surg. Oncol.* – 2007. – Vol. 14. – P. 2649-2653.

124. Ledermann J.A., Raja F.A., Fotopoulou C. et al. Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // *Ann. Oncol.* – 2013. – Vol. 24(Suppl 6). – P. vi24-32.

125. Lee J., Chung Y., Na K. et al. External validation of chemotherapy response score system for histopathological assessment of tumor regression after neoadjuvant chemotherapy in tubo-ovarian high-grade serous carcinoma // *J. Gynecol. Oncol.* – 2017. – Vol. 28(6). – P. e73.

126. Leigh N., Rekhtman N., Biermann W. et al. Molecular testing for selection of patients with lung cancer for epidermal growth factor receptor and anaplastic lymphoma kinase tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the study of lung cancer/association for molecular pathology guideline // *J. Clin. Oncol.* – 2014. – Vol. 32(32). – P. 3673-3679.

127. Levine D., Lin O., Barakat R. et al. Risk of endometrial carcinoma associated with BRCA mutation // *Gynecol. Oncol.* – 2001. – Vol. 80(3). – P. 395-398.

128. Leyland-Jones B.R., Ambrosone C.B., Bartlett J. et al. Recommendations for collection and handling of specimens from Group breast cancer clinical trials // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – Vol. 26. – P. 5638–5644.

129. Lochhead P., ElOmar E.M. Gastric cancer // *Brit. Med. Bull.* – 2008. – Vol. 85. – P. 87-100.
130. Lowe K.A., Chia V.M., Taylor A. et al. An international assessment of ovarian cancer incidence and mortality // *Gynecol. Oncol.* – 2013. – Vol. 130. – P. 107-114.
131. Lucas A., Shakya R., Lipsyc M. et al. High prevalence of BRCA1 and BRCA2 germline mutations with loss of heterozygosity in a series of resected pancreatic adenocarcinoma and other neoplastic lesions // *Clin. Cancer Res.* – 2013. – Vol. 19. – P. 3396-3403.
132. Lynch H.T., Snyder C., Lynch J. Hereditary breast cancer: practical pursuit for clinical translation // *Ann. Surg. Oncol.* – 2012. – Vol. 19(6). – P. 1723- 1731.
133. Madore J., Ren F., Filali-Mouhim A. et al. Characterization of the molecular differences between ovarian endometrioid carcinoma and ovarian serous carcinoma. Increasingly, high-grade ECs are being reclassified as HGSC // *J. Pathol.* – 2010. – Vol. 220(3). – P. 392-400.
134. Mamounas E.P., Anderson S.J., Dignam J.J. et al. Predictors of locoregional recurrence after neoadjuvant chemotherapy: results from combined analysis of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18 and B-27 // *J. Clin. Oncol.* – 2012. – Vol. 30. – P. 3960–3966.
135. Mangia A., Tommasi S., Bruno M. et al. Histological features of extratumoral breast lesions as a predictive factor of familial breast cancer // *Oncol. Rep.* – 2010. – Vol. 23(6). – P. 1641-1645.
136. Måseide K., Pintilie M., Kandel R., Hill R. Can sparsely and heterogeneously expressed proteins be detected using tissue microarrays? A simulation study of the hypoxia marker carbonic anhydrase IX (CA IX) in human soft tissue sarcoma // *Pathol. Res. Pract.* – 2008. – Vol. 204(3). – P. 175-183.
137. Mavaddat N., Barrowdale D., Andrulis I. et al. Pathology of breast and ovarian cancers among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (CIMBA) // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2012. – Vol. 21(1). – P. 134-147.

138. Martins F., De S., Almendro V., et al. Evolutionary pathways in BRCA1-associated breast tumors. *Cancer Discov.* – 2012. – Vol. 2(6) . – P. 503-11.

139. Mazouni C., Peintinger F., Wan-Kau S. et al. Residual ductal carcinoma in situ in patients with complete eradication of invasive breast cancer after neoadjuvant chemotherapy does not adversely affect patient outcome // *J. Clin. Oncol.* – 2007. – Vol. 25. – P. 2650–2655.

140. Meigs J.V., Greenough R.B. Tumors of the female pelvic organs // *Am. J. Med. Sci.* – 1935. – Vol. 189. – P. 430.

141. Menon U., Gentry-Maharaj A., Hallett R. et al. Sensitivity and specificity of multimodal and ultrasound screening for ovarian cancer, and stage distribution of detected cancers: results of the prevalence screen of the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS) // *Lancet Oncol.* – 2009. – Vol. 10(4). – P. 327-340.

142. Miki Y. et al. Strong Candidate for the Breast and Ovarian Cancer // *Science.* – 1994. – Vol. 266.

143. Mitiushkina N., Iyevleva A., Poltoratskiy A. et al. Detection of EGFR mutations and EML4-ALK rearrangements in lung adenocarcinomas using archived cytological slides // *Cancer Cytopathol.* – 2013. – Vol. 121(7). – P. 370-376.

144. Mitra A., Jameson C., Barbachano Y. et al. Elevated expression of Ki-67 identifies aggressive prostate cancers but does not distinguish BRCA1 or BRCA2 mutation carriers // *Oncol Rep.* – 2010. – Vol. 23(2). – P. 299-305.

145. Mittendorf E.A., Jeruss J.S., Tucker S.L. et al. Validation of a novel staging system for disease-specific survival in patients with breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy // *J. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 29. – P. 1956–1962.

146. Mohanty S., Lai J., Gordon O. et al. BRCA-mutated Invasive Breast Carcinomas: Immunohistochemical Analysis of Insulin-like Growth Factor II mRNA-binding Protein (IMP3), Cytokeratin 8/18, and Cytokeratin 14 // *Breast J.* – 2015. – Vol. 21(6). – P. 596-603.

147. Moiseyenko V., Volkov N., Suspistin E. et al. Evidence for predictive role of BRCA1 and bTUBIII in gastric cancer // *Med Oncol.* – 2013. – Vol. 30(2). – P. 545.

148. Morgan R.J. Jr, Alvarez R.D., Armstrong D.K. et al. National Comprehensive Cancer Network. Epithelial ovarian cancer // J. Natl. Compr. Canc. Netw. – 2011. – Vol. 9. – P. 82-113.

149. Morse C., Norquist B., Harrell M. et al. Neoplastic cellularity is associated with clinical and molecular features of high-grade serous ovarian carcinoma // Gynecol. Oncol. – 2016. – Vol. 143(2). – P. 389-392.

150. Muraji M., Sudo T., Iwasaki S. et al. Histopathology predicts clinical outcome in advanced epithelial ovarian cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy and debulking surgery // Gynecol. Oncol. – 2013. – Vol. 131. – P. 531-534.

151. Narod S.A. et al. Risk modifiers in carriers of BRCA1 mutations // International Journal of Cancer. – 1995. – Vol. 64(6). – P. 394–398.

152. NHS Breast Screening Programme (NHSBSP). Pathology Reporting Of Breast Disease: A Joint Document Incorporating the Third Edition of the NHS Breast Screening Programme's Guidelines for Pathology Reporting in Breast Cancer Screening and the Second Edition of The Royal College of Pathologists' Minimum Dataset for Breast Cancer Histopathology. NHSBSP Publication No 58. NHS Cancer Screening Programmes jointly with The Royal College of Pathologists, 2005.

153. Noh J., Choi D., Baek H. et al. Associations between BRCA Mutations in High-Risk Breast Cancer Patients and Familial Cancers Other than Breast or Ovary // J. Breast Cancer. – 2012. – Vol. 15(3). – P. 283-287.

154. Noori S., Gangi A., Nelson M. et al. Comparison of nodal metastasis between BRCA mutation carriers and non-BRCA mutation carriers with breast cancer // Ann Surg Oncol. – 2014. – Vol. 21(10). – P. 3324-3329.

155. Obenauf A., Zou Y., Ji A., et al. Therapy-induced tumour secretomes promote resistance and tumour progression // Nature. – 2015. – Vol. 520. – P. 368-72.

156. Ohashi Y., Creek K., Pirisi L. et al. RNA degradation in human breast tissue after surgical removal: a time-course study // Exp Mol Pathol. – 2004. – Vol. 77(2). – P. 98-103.

157. Pal T., Permuth-Wey J., Betts J.A. et al. BRCA1 and BRCA2 mutations account for a large proportion of ovarian carcinoma cases // *Cancer*. – 2005. – Vol. 104(12). – P. 2807-2816.
158. Palacios J., Honrado E., Osorio A. et al. Phenotypic characterization of BRCA1 and BRCA2 tumors based in a tissue microarray study with 37 immunohistochemical markers // *Breast Cancer Res Treat.* – 2005. – Vol. 90(1). – P. 5-14.
159. Paluch-Shimon S., Friedman E., Berger R. et al. Neo-adjuvant doxorubicin and cyclophosphamide followed by paclitaxel in triple-negative breast cancer among BRCA1 mutation carriers and non-carriers // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2016. – Vol. 157(1). – P. 157-165.
160. Parkin D.M., Bray F., Ferlay J., Pisani P. Global cancer statistics, 2002 // *CA Cancer J. Clin.* – 2005. – Vol. 55. – P. 74-108.
161. Patch A.M., Christie E.L., Etemadmoghadam D. et al. Australian Ovarian Cancer Study Group. Whole-genome characterization of chemoresistant ovarian cancer // *Nature*. – 2015. – Vol. 521. – P. 489-494.
162. Peintinger F., Sinn B., Hatzis C. et al. Reproducibility of residual cancer burden for prognostic assessment of breast cancer after neoadjuvant chemotherapy // *Mod. Pathol.* – 2015. – Vol. 28. – P. 913–920.
163. Penault-Llorca F., Abrial C., Raoelfils I. et al. Comparison of the prognostic significance of Chevallier and Sataloff's pathologic classifications after neoadjuvant chemotherapy of operable breast cancer // *Hum. Pathol.* – 2008. – Vol. 39. – P. 1221–1228.
164. Pennington K.P., Walsh T., Lee M. et al. BRCA1, TP53, and CHEK2 germline mutations in uterine serous carcinoma // *Cancer*. – 2013. – Vol. 119(2). – P. 332-338.
165. Petrillo M., Zannoni G.F., Tortorella L. et al. Prognostic role and predictors of complete pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in primary unresectable ovarian cancer // *AM J. Obstet. Gynecol.* – 2014. – Vol. 211. – P. 632.e1-8.

166. Pierce L., Phillips K., Griffith K. et al. Local therapy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers with operable breast cancer: comparison of breast conservation and mastectomy // *Breast Cancer Res Treat.* – 2010. – Vol. 121(2). – P. 389-398.

167. Pinder S.E., Provenzano E., Earl H. et al. Laboratory handling and histology reporting of breast specimens from patients who have received neoadjuvant chemotherapy // *Histopathology.* – 2007. – Vol. 50. – P. 409–417.

168. Plakhins G., Irmejs A., Gardovskis A. et al. Genotype-phenotype correlations among BRCA1 4153delA and 5382insC mutation carriers from Latvia // *BMC Med. Genet.* – 2011. – Vol. 12. – P. 147.

169. Prowell T.M., Pazdur R. Pathological complete response and accelerated drug approval in early breast cancer // *N. Engl. J. Med.* – 2012. – Vol. 366. – P. 2438-2441.

170. Pyrhönen S., Kuitunen T., Nyandoto P., Kouri M. Randomised comparison of fluorouracil, epidoxorubicin and methotrexate (FEMTX) plus supportive care with supportive care alone in patients with non-resectable gastric cancer // *Br. J. Cancer.* – 1995. – Vol. 71. – P. 587-591.

171. Rebbeck T.R. et al. Modification of BRCA1-Associated Breast and Ovarian Cancer Risk by BRCA1-Interacting Genes // *Cancer Research.* – 2011. – Vol. 71(17). – P. 5792–5805.

172. Reyes M., Arnold A., Kauff N. et al. Invasion patterns of metastatic high-grade serous carcinoma of ovary or fallopian tube associated with BRCA deficiency // *Mod. Pathol.* – 2014. – Vol. 27(10). – P. 1405-1411.

173. Ricci S., Shafer A., Nerenstone S. et al. A surveillance conundrum: a case of 4 distinct primary malignancies in a BRCA-1 mutation carrier // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2012. – Vol. 31(2). – P. 145-148.

174. Risch H.A., McLaughlin J.R., Cole D.E. et al. Population BRCA1 and BRCA2 mutation frequencies and cancer penetrances: A kin-cohort study in Ontario, Canada // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2006. – Vol. 98. – P. 1694-1706.

175. Romero A., Garcia-Saenz J.A., Fuentes-Ferrer M. et al. Correlation between response to neoadjuvant chemotherapy and survival in locally advanced breast cancer patients // *Ann. Oncol.* – 2013. – Vol. 24. – P. 655–661.

176. Rouzier R., Extra J.M., Klijanienko J. et al. Incidence and prognostic significance of complete axillary down-staging after primary chemotherapy in breast cancer patients with T1 to T3 tumors and cytologically proven axillary metastatic lymph nodes // *J. Clin. Oncol.* – 2002. – Vol. 20. – P. 1304–1310.

177. Sahoo S., Lester S.C. Pathology of breast carcinomas after neoadjuvant chemotherapy: an overview with recommendations on specimen processing and reporting // *Arch Pathol. Lab. Med.* – 2009. – Vol. 133. – P. 633–642.

178. Said I., Böhm S., Beasley J. et al. The Chemotherapy Response Score (CRS): Interobserver Reproducibility in a Simple and Prognostically Relevant System for Reporting the Histologic Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Tuboovarian High-grade Serous Carcinoma // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2017. – Vol. 36(2). – P. 172-179.

179. Sassen S., Schmalfeldt B., Avril N. et al. Histopathologic assessment of tumor regression after neoadjuvant chemotherapy in advanced-stage ovarian cancer // *Hum. Pathol.* – 2007. – Vol. 38. – P. 926-934.

180. Sataloff D.M., Mason B.A., Prestipino A.J. et al. Pathologic response to induction chemotherapy in locally advanced carcinoma of the breast: a determinant of outcome // *J. Am. Coll. Surg.* – 1995. – Vol. 180. – P. 297–306.

181. Schmeler K.M., Sun C.C., Bodurka D.C. et al. Neoadjuvant chemotherapy for low-grade serous carcinoma of the ovary or peritoneum // *Gynecol. Oncol.* - 2008. – Vol. 108. – P. 510-514.

182. Segev Y., Iqbal J., Lubinski J. et al. The incidence of endometrial cancer in women with BRCA1 and BRCA2 mutations: an international prospective cohort study // *Gynecol. Oncol.* – 2013. – Vol. 130(1). – P. 127-131.

183. Singer C., Zabkova P., Rappaport C. et al. Presence of intratumoral stem cells in breast cancer patients with or without BRCA germline mutations // *Curr. Cancer Drug Targets.* – 2012. – Vol. 12(1). – P. 44-50.

184. Shen T., Teknos T., Toland A. et al. Salivary gland cancer in BRCA-positive families: a retrospective review // *JAMA Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2014. – Vol. 140(12). – P. 1213-1217.

185. Sheri A., Smith I.E., Johnston S.R. et al. Residual proliferative cancer burden to predict long-term outcome following neoadjuvant chemotherapy // *Ann. Oncol.* -2015. – Vol. 26. – P. 75–80.

186. Sokolenko A.P. et al. Founder mutations in early-onset, familial and bilateral breast cancer patients from Russia // *Familial Cancer.* – 2007. – Vol. 6(3). – P. 281–286.

187. Sokolenko A.P., Iyevleva A.G., Mitiushkina N.V. et al. Hereditary breast-ovarian cancer syndrome in Russia // *Acta Naturae.* – 2010. – Vol. 2(4). – P. 31-35.

188. Sorlie T., Tibshirani R., Parker J. et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* –2003. – Vol. 100. – P. 8418–8423.

189. Soslow R., Han G., Park K. et al. Morphologic patterns associated with BRCA1 and BRCA2 genotype in ovarian carcinoma // *Mod. Pathol.* – 2012. – Vol. 25(4). – P. 625-636.

190. Southey M.C, Ramus S., Dowty J. et al. Morphological predictors of BRCA1 germline mutations in young women with breast cancer // *Br. J. Cancer.* – 2011. – Vol. 104(6). – P. 903-909.

191. Stanta G. *Guidelines for Molecular Analysis in Archive Tissues* // Springer Berlin Heidelberg. – 2011. – P. 323.

192. Sugiyama T., Kamura T., Kigawa J. et al. Clinical characteristics of clear cell carcinoma of the ovary: a distinct histologic typewith poor prognosis and resistance to platinum-based chemotherapy // *Cancer.* – 2000. – Vol. 88. – P. 2584-2589.

193. Suspitsin E., Sherina N., Ponomariova D. et al. High frequency of BRCA1, but not CHEK2 or NBS1 (NBN), founder mutations in Russian ovarian cancer patients // *Hered Cancer Clin. Pract.* – 2009. – Vol. 7(1). – P. 5.

194. Symmans W.F., Peintinger F., Hatzis C. et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy // *J. Clin. Oncol.* – 2007. – Vol. 25. – P. 4414–4422.

195. Swisher E., Sakai W., Karlan B., et al. Secondary BRCA1 mutations in BRCA1-mutated ovarian carcinomas with platinum resistance // *Cancer Res.* – 2008. – Vol. 68(8) . – P. 2581-6.

196. Takano M., Kikuchi Y., Yaegashi N. et al. Clear cell carcinoma of the ovary: a retrospective multicentre experience of 254 patients with complete surgical staging // *Br. J. Cancer.* – 2006. – Vol. 94. – P. 1369-1374.

197. Tan D.S., Rothermundt C., Thomas K. et al. “BRCAness” syndrome in ovarian cancer: a case-control study describing the clinical features and outcome of patients with epithelial ovarian cancer associated with BRCA1 and BRCA2 mutations // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – Vol. 26. – P. 5530-5536.

198. Thompson K., Hernandez J., Canby-Hagino E. et al. Prognostic features in men who died of prostate cancer // *J. Urol.* – 2005. – Vol. 174. – P. 553–556.

199. Tikhomirova, L. et al. High prevalence of two BRCA1 mutations, 4154delA and 5382insC, in Latvia // *Familial Cancer.* – 2005. – Vol. 4(2). – P. 77–84.

200. Torre L.A., Bray F., Siegel R.L. et al. Global cancer statistics, 2012 // *CA Cancer J. Clin.* – 2015. – Vol. 65. – P. 87-108.

201. Tucker H., Charles Z., Robertson J., Adam J. NICE guidance on olaparib for maintenance treatment of patients with relapsed, platinum-sensitive, BRCA mutation-positive ovarian cancer // *Lancet Oncol.* – 2016. – Vol. 17(3). – P. 277-278.

202. U.S. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Pathological Complete Response in Neoadjuvant Treatment of High-Risk Early-Stage Breast Cancer: Use as an Endpoint to Support accelerated Approval, 2016. - <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm305501.pdf>.

203. Vaughan S., Coward J.I., Bast R.C. Jr et al. Rethinking ovarian cancer: recommendations for improving outcomes // *Nat. Rev. Cancer.* – 2011. – Vol. 11(10). – P. 719-725.

204. Vargas A., Da Silva L., Lakhani S. The contribution of breast cancer pathology to statistical models to predict mutation risk in BRCA carriers // *Fam Cancer*. – 2010. – Vol. 9(4). – P. 545-553.
205. Verhoog L.C., Brekelmans C.T., Seynaeve C. et al. Contralateral breast cancer risk is influenced by the age at onset in BRCA1 associated breast cancer // *Br. J. Cancer*. – 2000. – Vol. 83. – P. 384-386.
206. Veschi S., Lattanzio R., Aceto G. et al. Alterations of MEN1 and E-cadherin/ β -catenin complex in sporadic pulmonary carcinoids // *Int. J. Oncol.* – 2012. – Vol. 41(4). – P. 1221-1228.
207. von Minckwitz G., Untch M., Blohmer J.U. et al. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes // *J. Clin. Oncol.* – 2012. – Vol. 30. – P. 1796–1804.
208. Wagner A.D., Unverzagt S., Grothe W. et al. Chemotherapy for advanced gastric cancer // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2010.
209. Waisbren J., Uthe R., Siziopikou K., Kaklamani V. BRCA 1/2 gene mutation and gastrointestinal stromal tumours: a potential association // *BMJ Case Rep.* – 2015. – pii: bcr2014208830.
210. Wang C., Zhang J., Wang Y. et al. Prevalence of BRCA1 mutations and responses to neoadjuvant chemotherapy among BRCA1 carriers and non-carriers with triple-negative breast cancer // *Ann. Oncol.* – 2015. – Vol. 26(3). – P. 523-528.
211. Weidpass E., Antonie J., Bray F.I. et al. Trends in corpus uteri cancer mortality in member states of the European Union // *Eur. J. Cancer*. – 2014. – Vol. 50 (9). – P. 1675-1684.
212. Wohrer S., Raderer M., Hejna M. Palliative chemotherapy for advanced gastric cancer // *Ann. Oncol.* – 2004. – Vol. 15. – № 11. – P. 1585-1595.
213. Wooster R., Neuhausen S.L., Mangion J. et al. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13 // *Science*. – 1994. – Vol. 265(5181). – P. 2088-2890.

214. Yanus G., Belyaeva A., Ivantsov A. et al. Pattern of clinically relevant mutations in consecutive series of Russian colorectal cancer patients // *Med. Oncol.* – 2013. – Vol. 30(3). – p. 686.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Suspitsin E., Sokolenko A., Voskresenskiy D., Ivantsov A., Shelehova K., Klimashevskiy V., Matsko D., Semiglazov V., Imyanitov E. Mixed epithelial/mesenchymal metaplastic carcinoma (carcinosarcoma) of the breast in BRCA1 carrier // *Breast Cancer*. – 2009. – P. 137-140.
2. Суспицын Е., Соколенко А., Воскресенский Д., Иванцов А., Шелехова К., Климашевский В., Мацко Д., Семиглазов В., Имянитов Е. Смешанная эпителиально-мезенхимальная метапластическая карцинома молочной железы у носительницы мутации в гене BRCA1 // *Вопросы онкологии. Приложение. Тезисы 5-й Российской конференции по фундаментальной онкологии «Петровские чтения -2009»*. – Санкт-Петербург, 17 апреля 2009 г.– 2009.– Т. 55.– № 2.– С. 34.
3. Волков Н., Проценко С., Суспицын Е., Иванцов А., Имянитов Е., Моисеенко В. Поиск молекулярных маркеров чувствительности рака желудка к стандартной химиотерапии // *VII съезд онкологов России: сборник материалов. Лекарственная терапия*. – Москва: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Росмедтехнологии», 2009. – Т. I. – С. 152-153.
4. Суспицын Е., Соколенко А., Воскресенский Д., Иванцов А., Шелехова К., Климашевский В., Мацко Д., Семиглазов В., Имянитов Е. Смешанная эпителиально-мезенхимальная метапластическая карцинома молочной железы у носительницы мутации в гене BRCA1 // *Сборник материалов. Научно-практическая конференция с международным участием «Совершенствование медицинской помощи при онкологических заболеваниях, включая актуальные проблемы детской гематологии и онкологии. Национальная онкологическая программа»* // VII съезд онкологов России, 29-30 октября 2009 г. Том I. – Москва, 2009.– С. 245.
5. Sokolenko A., Iyevleva A., Preobrazhenskaya E., Mitiushkina N., Aysheva S., Suspitsin E., Kuligina E., Gorodnova T., Pfeifer W., Togo A., Turkevich E., Ivantsov A., Voskresenskiy D., Dolmatov G., Bit-Sava E., Matsko D., Semiglazov

V., Fichtner I., Larionov A., Kuznetsov S., Antoniou A., Imyanitov E. High prevalence and breast cancer predisposing role of the BLM c.1642 C>T (Q548X) mutation in Russia // *Int. J. Cancer.* – 2012. – Vol. 130(12). – P. 2867-2873.

6. Moiseyenko V., Volkov N., Suspistin E., Yanus G., Iyevleva A., Kuligina E., Togo A., Kornilov A., Ivantsov A., Imyanitov E. Evidence for predictive role of BRCA1 and bTUBIII in gastric cancer // *Med. Oncol.* – 2013. – Vol. 30(2). –P. 545.

7. Семиглазова Т., Клименко В., Филатова Л., Чубенко В., Криворотько П., Иванов В., Туркевич Е., Иванцов А., Новиков С., Семиглазов В., Донских Р., Моисеенко Ф., Бусько Е., Брянцева Ж., Осипов М., Гершанович М., Имянитов Е., Семиглазов В. Маркеры эффективности предоперационной таксансодержащей химиотерапии местнораспространенного рака молочной железы // *Вопросы онкологии.* – 2013. – Т. 59. – № 3. – С. 363-367.

8. Семиглазова Т., Клименко В., Иевлева А., Филатова Л., Чубенко В., Криворотько П., Иванов В., Яцук О., Зайцева О., Соколенко А., Туркевич Е., Иванцов А., Новиков С., Семиглазов В., Донских Р., Бусько Е., Брянцева Ж., Осипов М., Гершанович М., Имянитов Е., Семиглазов В. Мутация 5382insC в гене BRCA1 – новый маркер эффективности таксансодержащей неoadъювантной химиотерапии местно-распространённого рака молочной железы? // *Материалы VIII Всероссийского съезда онкологов, 11-13 сентября 2013 г, Санкт-Петербург. Онкология XXI века: от научных исследований – в клиническую практику // Вопросы онкологии.* – 2013. – Т. 59(приложение). – № 3. – С. 123-124.

9. Семиглазова Т., Клименко В., Филатова Л., Криворотько П., Чубенко В., Иванов В., Туркевич Е., Иванцов А., Новиков С., Семиглазов В., Мельник Л., Донских Р., Гершанович М., Имянитов Е., Семиглазов В. Молекулярные маркеры эффективности предоперационной химиотерапии местно-распространённого рака молочной железы // *Онкология 21 века: от научных исследований в клиническую практику.* – Материалы 8 Всероссийского съезда онкологов. Т. I. – СПб, 2013. – С. 328-329.

10. Семиглазова Т., Клименко В., Филатова Л., Криворотько П., Иванов В., Туркевич Е., Иванцов А., Новиков С., Семиглазов В., Донских Р., Бусько Е.,

Брянцева Ж., Осипов М., Гершанович М., Имянитов Е., Семиглазов В. Роль молекулярных маркеров в оценке результатов исследования» Таксаны в комбинации с антрациклинами (ТАС) и без антрациклинов (ТС) в неoadьювантном лечении больных местно-распространённым раком молочной железы // Тезисы III конференции общества специалистов онкологов по опухолям органов репродуктивной системы 28-29 октября 2013. – Москва, 2013. – С. 64-65.

11. Sokolenko A., Bulanova D., Iyevleva A., Preobrazhenskaya E., Ivantsov A., Kuligina E., Mitiushkina N., Dixon J., Larionov A., Kuznetsov S., Imyanitov E. High prevalence of GPRC5A germline mutations in BRCA1-mutant breast cancer patients // International Journal of Cancer. – 2014. – Vol. 134(10). – P. 2352-2358.

12. Pfeifer W., Sokolenko A., Potapova O., Bessonov A., Ivantsov A., Laptiev S., Zaitseva O., Yatsuk O., Matsko D., Semiglazova T., Togo A., Imyanitov E. Breast cancer sensitivity to neoadjuvant therapy in BRCA1 and CHEK2 mutation carriers and non-carriers // Breast Cancer Res. Treat. – 2014. – Vol. 148(3). – P. 675-683.

13. Suspitsin E., Yanus G., Sokolenko A., Yatsuk O., Zaitseva O., Bessonov A., Ivantsov A., Heinstejn V., Klimashevskiy V., Togo A., Imyanitov E. Development of breast tumors in CHEK2, NBN/NBS1 and BLM mutation carriers does not commonly involve somatic inactivation of the wild-type allele // Med. Oncol. – 2014. – Vol. 31(2). – P. 828.

14. Патент на изобретение № 2522501. Способ прогнозирования наследственной предрасположенности к раку молочной железы Соколенко А., Иевлева А., Преображенская Е., Митюшкина Н., Абышева С., Суспицын Е., Кулигина Е., Иванцов А., Того А., Имянитов Е.

15. Иванцов А., Клещёв М. Воспроизводимость результатов патоморфологических исследований в клинике // Практическая онкология. – 2015. – Т. 16. – № 2. – С. 78-81.

16. Moiseyenko V., Dolmatov G., Moiseyenko F., Ivantsov A., Volkov N., Chubenko V., Abduloeva N., Bogdanov A., Sokolenko A., Imyanitov E. High

efficacy of cisplatin neoadjuvant therapy in a prospective series of patients carrying BRCA1 germ-line mutation // *Med. Oncol.* – 2015. – Vol. 32(4). – P. 514.

17. Gorodnova T., Sokolenko A., Ivantsov A., Iyevleva A., Suspitsin E., Aleksakhina S., Yanus G., Togo A., Maximov S., Imyanitov E. High response rates to neoadjuvant platinum-based therapy in ovarian cancer patients carrying germ-line BRCA mutation // *Cancer Lett.* – 2015. – Vol. 369(2). – P. 363-367.

18. Иванцов А., Клещёв М., Ивко О., Митюшкина Н., Иевлева А., Кулигина Е., Имянитов Е. Особенности подготовки опухолевого материала для молекулярно-генетического анализа // *Вопросы онкологии.* – 2016. – №2. – С. 351-354.

19. Sokolenko A., Volkov N., Preobrazhenskaya E., Suspitsin E., Garifullina A., Ivantsov A., Togo A., Imyanitov E. Evidence for a pathogenic role of BRCA1 L1705P and W1837X germ-line mutations // *Mol. Biol. Rep.* – 2016. – Vol. 43(5). – P. 335-338.

20. Городнова Т., Иванцов А., Клещев М., Соколенко А., Котив Х., Берлев И., Имянитов Е. Патоморфологические критерии ответа BRCA-позитивного рака яичников на лечение // II Петербургский онкологический форум «Белые Ночи – 2016». Сборник тезисов. – М., 2016. – С. 198.

21. Иевлева А., Городнова Т., Иванцов А., Клещёв М., Савоневич Е., Соколенко А. Влияние неoadъювантной цитотоксической терапии на соматический статус гена BRCA1 в brca-зависимых опухолях яичника: аккумуляция клеток с восстановлением функции гена как возможный механизм вторичной резистентности II Петербургский онкологический форум «Белые Ночи – 2016». Сборник тезисов. – М., 2016.– С. 341.

22. Иванцов А., Клещёв М., Аванесян А., Соколенко А. Патоморфологическая оценка атрофических изменений слизистой оболочки желудка у больных раком яичника и раком молочной железы с наследственными мутациями в генах BRCA 1/2 II Петербургский онкологический форум «Белые Ночи – 2016». Сборник тезисов. – М., 2016. – С. 389.

23. Kuligina E., Gorodnova T., Sokolenko A., Ivantsov A., Iyevleva A., Imyanitov E. Accumulation of tumor cells with retained heterozygous BRCA1 status during platinum therapy: A probable mechanism of attenuation of tumor response in BRCA1-driven ovarian cancer // *Cancer Research*. – Vol. 76(14 Supplement). – P. 2928.

24. Ivantsov A., Kleshchov M., Avanesyan A., Shelekhova K., Shcherbakov A., Imyanitov E., Sokolenko A. Gastric atrophy in breast and ovarian cancer patients carrying BRCA1 germline mutation // *Virchows Arch*. – 2016. – Vol. 469(suppl 1). – S. 155-156.

25. Иванцов А., Клещев М., Городнова Т., Соколенко А. Гистопатологическое определение регресса опухоли после неoadъювантной химиотерапии в серозных карциномах яичника high grade с наследственной мутацией генов BRCA1/2 // *Злокачественные опухоли*. – 2016. – №4 (спецвыпуск 1). – С. 257-258.

26. Иванцов А. Преаналитический этап молекулярных исследований (особенности подготовки опухолевого материала) // *Злокачественные опухоли*. – 2016. – №4 (спецвыпуск 1). – С. 210.

27. Sokolenko A., Savonevich E., Ivantsov A., Raskin G., Kuligina E., Gorodnova T., Preobrazhenskaya E., Kleshchov M., Tyurin V., Mukhina M., Kotiv K., Shulga A., Kuznetsov S., Berlev I., Imyanitov E. Rapid selection of BRCA1-proficient tumor cells during neoadjuvant therapy for ovarian cancer in BRCA1 mutation carriers // *Cancer Lett*. – 2017. – Vol. 397.- p. 127-132.

28. Иванцов А., Клещев М., Соколенко А., Городнова Т., Рогачев М., Консантинова А., Имянитов Е., Шелехова К. Морфологические особенности BRCA-ассоциированных опухолей: учебное пособие для обучающихся в системе высшего и дополнительного профессионального образования. – СПб.: НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова, 2017. – 52 с.

29. Клещев М., Иванцов А. Основные иммуногистохимические маркеры, используемые в онкоморфологических исследованиях // *Фармакотерапия*

опухолей. Посвящается памяти Михаила Лазаревича Гершановича/ А.Н. Стуков и коллектив авторов / Под ред. А.Н. Стукова, М.А. Бланка, Т.Ю. Семиглазовой, А.М. Беляева. – СПб.: Издательство АНО «Вопросы онкологии», 2017. – С. 375-386.

30. Иванцов А., Клещев М., Городнова Т., Соколенко А. Морфологические особенности BRCA1/2-ассоциированных опухолей яичников и молочной железы // Вопросы организации патологоанатомической работы в мирное и военное время: сб. научн. тр. Всероссийской конференции, посвященной 75-летию Центральной патологоанатомической лаборатории МО РФ ВМедА им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, Россия, 21 апр. 2017. – СПб.: ВМедА, 2017. – С. 46-50.

31. Котив Х., Городнова Т., Иванцов А., Иевлева А., Алексахина С., Манихас Г., Лисянская А., Саломатов Р., Шушания М., Бороденко М., Роман Л., Михайлюк Г., Михеева О., Григорьева Т., Берлев И., Имянитов Е., Соколенко А. Клинико-морфологические особенности наследственного рака яичника // Сибирский онкологический журнал. – 2017. – Т. 16(6). – С. 31-40.

32. Иванцов А., Клещев М., Городнова Т., Имянитов Е., Соколенко А. Выраженный характер морфологического регресса наследственных опухолей яичника в ответ на неoadьювантную химиотерапию // Материалы V съезда Российского общества патологоанатомов. – М.: Группа МДВ, 2017. – С. 118-119.

33. Котив Х., Иванцов А., Соколенко А. Использование комбинации цисплатина и митомицина для неoadьювантной терапии пациенток с BRCA1-ассоциированным раком яичника // Актуальные вопросы фундаментальной и клинической онкологии. Сборник материалов XII Всероссийской конференции молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н.В. Васильева. Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; Томский государственный университет. – Изд.: Национальный исследовательский Томский государственный университет (Томск), 2017. – С. 70-71.

34. Котив Х., Городнова Т., Соколенко А., Иванцов А., Манихас Г., Лисянская А., Михеева О., Григорьева Т., Михайлюк Г., Берлев И., Имянитов Е. Сравнение эффективности стандартной схемы неoadъювантной химиотерапии со схемой цисплатин и митомицин у больных BRCA-ассоциированным раком яичника // Сборник научных работ III Петербургского международного онкологического форума «БЕЛЫЕ НОЧИ 2017» 23–25 июня 2017. г. Санкт-Петербург. – С. 151-152.

35. Ivantsov A., Kleshchov M., Gorodnova T., Shelekhova K., Imyanitov E., Sokolenko A. Histopathological regress of serous ovarian carcinomas high-grade carrying BRCA germline mutation after neoadjuvant treatment // *Virchows Arch.* – 2017. – Vol. 471(Suppl 1). – S91.

36. Imyanitov E., Savonevich E., Ivantsov A., Raskin G., Kuligina E., Gorodnova T., Preobrazhenskaya E., Kleshchov M., Tiurin V., Togo A., Sokolenko A. Somatic loss of the wild-type BRCA1 allele is not necessarily the first event in the pathogenesis of hereditary ovarian cancer: Implications for novel mechanism of acquired platinum resistance // *Annals of Oncology.* – 2017. – Vol. 28(Suppl. 5). – P. 582-583.

37. Иванцов А., Клещёв М., Городнова Т., Котив Х., Соколенко А. BRCA-ассоциированный карциноид лёгкого (описание клинического случая) // Современные подходы в клинико-морфологической диагностике и лечении заболеваний человека: сб. научн. тр. Всероссийской конференции с международным участием, седьмые научные чтения, посвященные памяти член-корр. РАМН, з.д.н. РФ, профессора Олега Константиновича Хмельницкого, г. Санкт-Петербург, Россия, 13 окт. 2017. – СПб, 2017. – С. 62-64.

38. Иванцов А., Клещёв М., Городнова Т.В Соколенко А., Котив Х., Амелина И., Михнин А., Урманчеева А., Берлев И., Имянитов Е. Редкий случай первично-множественной опухоли у носительницы мутации в гене BRCA1: BRCA-ассоциированный рак яичников и карциноид лёгкого // *Сибирский онкологический журнал.* – 2018. – Т. 17(1). – С. 99-103.

39. Иванцов А., Клещев М., Городнова Т., Котив Х., Имянитов Е., Соколенко А. Прогностическое значение оценки морфологического регресса метастазов наследственных опухолей яичника в большой сальник после неoadьювантной химиотерапии // Уральский медицинский журнал. – 2018. – № 2. – С. 39-42.

40. Иванцов А., Клещев М., Кулигина Е. Морфологическая диагностика опухолей: сдвиг в сторону молекулярно-генетического анализа // Природа. – 2018. – № 6. – С. 32-36.

41. Кулигина Е., Соколенко А., Бизин И., Романько А., Анисимова М., Иванцов А., Имянитов Е. Поиск недостающих генетических детерминант наследственного рака молочной железы с помощью полноэкзомного секвенирования: способы оценки патогенности и алгоритмы селекции кандидатных вариантов // Вопросы онкологии. – 2018. – № 3. – С. 310-318.

42. Городнова Т., Котив Х., Петрик С., Соколенко А., Иванцов А., Гусейнов К., Ибрагимов З., Мешкова И., Некрасова Е., Сидорук А., Смирнова О., Бондарев Н., Лавринович О., Микая Н., Ульрих Е., Урманчеева А., Имянитов Е., Карачун А., Беляев А., Берлев И. Циторедуктивные операции при раке яичников: обзор литературы и анализ опыта клиники за тринадцать лет // Вопросы онкологии. – 2018. – № 3. – С. 353-365.

43. Городнова Т., Соколенко А., Иванцов А., Котив Х., Яковлева М., Михеева О., Михайлюк Г., Лисянская А., Гусейнов К., Некрасова Е., Смирнова О., Сидорук А., Бондарев Н., Матвеева Н., Мешкова И., Микая Н., Петрик С., Манихас Г., Проценко С., Берлев И., Беляев А., Имянитов Е. Системная терапия распространенного рака яичников у носительниц мутаций в гене BRCA1 - новые лечебные подходы: результаты проспективного нерандомизированного многоцентрового исследования // Фарматека. – 2018. – № 7. – С. 57-63.

44. Gorodnova T., Kotiv K., Ivantsov A., Mikheyeva O., Mikhailiuk G., Lisyanskaya A., Mikaya N., Guseynov K., Bondarev N., Matveyeva N., Nekrasova E., Sidoruk A., Roman L., Manikhas G., Belyaev A., Sokolenko A., Berlev I., Imyanitov E.

Efficacy of Neoadjuvant Therapy With Cisplatin Plus Mitomycin C in BRCA1-Mutated Ovarian Cancer // *Int. J. Gyn. Cancer.* – 2018. – Vol. 28(8). – P. 1498–1506.

45. Yanus G., Akhapkina T., Ivantsov A., Preobrazhenskaya E., Aleksakhina S., Bizin I., Sokolenko A., Mitiushkina N., Kuligina E., Suspitsin E., Venina A., Holmatov M., Zaitseva O., Yatsuk O., Pashkov D., Belyaev A., Togo A., Imyanitov E., Iyevleva A. Spectrum of APC and MUTYH germ-line mutations in Russian patients with colorectal malignancies // *Clin Genet.* – 2018. – Vol. 93(5). – P. 1015-1021.

46. Raskin G., Ivantsov A., Kleschov M., Avanesyan A., Imyanitov E., Sokolenko A. Evaluation of gastric atrophy in BRCA1 germ-line mutation carriers and non-carriers // *Virchows Arch.* – 2018. – Vol. 473(Suppl 1). – S294.

47. Иванцов А. Морфологическая оценка ответа опухолей на терапию // В поисках моделей персонализированной медицины. Сборник научных трудов V Международной конференции «ПОСТГЕНОМ'2018». 29 октября – 2 ноября 2018. – Казань: Издательство Казан. ун-та, 2018. – С. 258.

48. Иванцов А. Патоморфология и молекулярная диагностика: критический взгляд // *Практическая онкология.* – 2018. – №3. – С. 236-247.

49. Иванцов А., Насыров Р., Имянитов Е., Соколенко А. Морфологические особенности BRCA1-ассоциированных опухолей // *Злокачественные опухоли.* – 2018. – Т. 8(№3s1). – С. 90-95.

50. Ivantsov A. Pathological response of ovarian cancer to neoadjuvant chemotherapy // *Chin. Clin. Oncol.* – 2018. – Vol. 7(6). – p. 59.

51. Gorodnova T., Sokolenko A., Ni V., Ivantsov A., Kotiv K., Petrik S., Amelina I., Berlev I., Imyanitov E. Natural history and outcomes of BRCA1-associated and sporadic ovarian carcinomas: outcomes of primary cytoreductive surgery or neoadjuvant chemotherapy // *Int. J. Gyn. Cancer.* – 2019 . [принято в печать].