



## Молекулярные подтипы серозного рака яичников



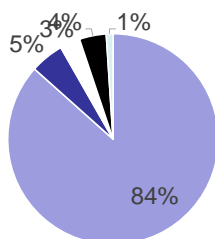
**Александра**

**Асатурова**

Старший научный сотрудник, к.м.н.,  
патологоанатомическое отделение ФГБУ «НМИЦ  
АГП им.В.И. Кулакова» Минздрава России

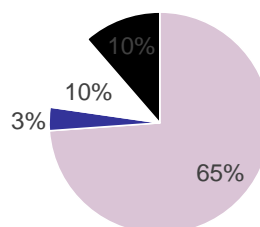
## Карциномы яичников в структуре злокачественных опухолей яичника

Структура злокачественных опухолей яичника



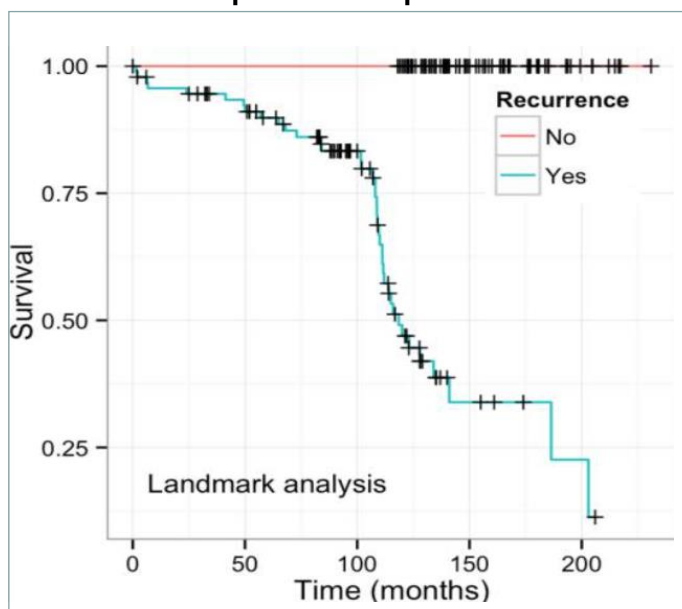
- Эпителиальные (карциномы)
- Стромы полового тяжа
- Зародышевоклеточные
- Метастатические
- Другие

Структура карцином яичника



- Серозная карцинома яичника высокой степени злокачественности
- Серозная карцинома яичника низкой степени злокачественности
- Эндометриоидная карцинома яичника
- Светлоклеточная карцинома

## Как улучшить выживаемость больных серозным раком яичников?



Ранняя диагностика

Эффективное лечение

### Методы ранней диагностики серозного рака яичников

- Тотальное гистологическое исследование маточных труб
- Исследование мазков эпителия маточной трубы
- Исследование специфических маркеров в биологических жидкостях
- Масспектрометрия
- Микроскопия *in vivo*

## Интраэпителиальные поражения маточных труб, удаленных по доброкачественным показаниям

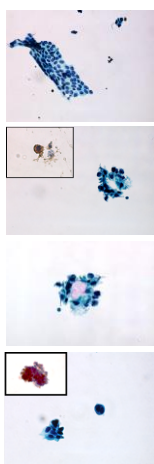
- **Из 522 пациенток** – в 4 случаях серозная трубная интраэпителиальная карцинома (СТИК) (**Rabban J. et al. (2014)** American Journal of Surgical Pathology; Vol.38(6): P:729-742)
- **Из 123 пациенток** – в 12 случаях p53-signature (9.7%), в 26 - SCOUTs (21.1%), в 4 серозное трубное интраэпителиальное поражение (3.2%). СТИК – не выявлено (**Nichida N. et al (2016)** Pathol. Int.; 66(6):337-42)
- **Из 388 пациенток** – 3 СТИК (**Seidman J. et al. (2016)** Int. J. Gynecol Pathol. 35(5):423-9)
- Клиническое наблюдение спорадической серозной трубной интраэпителиальной карциномы при хирургическом лечении пациентки с миомой матки (**Асатурова А.В. и соавт. (2016)** Акушерство и гинекология; № 7: С. 119-124)

## Цито-гистологические параллели в интраэпителиальной патологии маточной трубы

Гистологическая картина

Сопоставление гистологической и  
цитологической картин

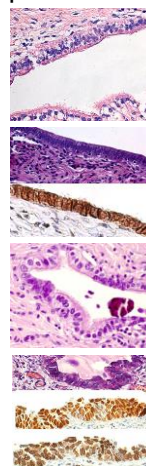
Серозная карцинома высокой степени злокачественности	100% - серозная трубная интраэпителиальная карцинома (STIC) 43% - STIC в сочетании с инвазивной трубной карциномой 100% - более 10 протяженных (>30 подряд) участков нормальных секреторных клеток SCOUT
Серозные пограничные опухоли	72% - папиллярная гиперплазия маточной трубы 60% - более 10 SCOUT
Серозные цистаденомы	20% более 10 SCOUT 80% неизменный эпителий маточной трубы



Неизменный эпителий маточной трубы, x200.  
SCOUT (экспрессия bcl-2 в ИЦХ и ИГХ препаратах, x400)

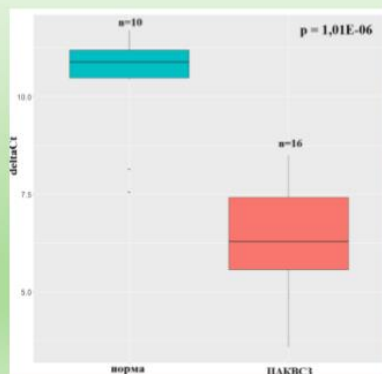
Папиллярная гиперплазия маточной трубы, x400.

STIC (экспрессия p16 и Ki-67), x400.



## Исследование **А.В. Тимофеева**, Г.Н. Хабас, М.В. Санникова, А.В. Асатурова

Анализ уровня экспрессии miR-101-3p в плазме крови в группах здоровых женщин и больных раком яичника (ЦАКВСЗ - цистаденокарцинома высокой степени злокачественности)



Нами впервые выявлено достоверное повышение уровня miR-101-3p в 20 раз в плазме крови больных ЦАКВСЗ по сравнению со здоровыми женщинами, что можно использовать в качестве диагностического теста данного заболевания.

По данным глубокого секвенирования настоящего исследования впервые выявлено достоверное снижение в 6 раз уровня экспрессии miR-101-3p ( $p=1,78E-05$ ) в цистаденокарциноме яичника высокой степени злокачественности по сравнению с доброкачественной цистаденомой.

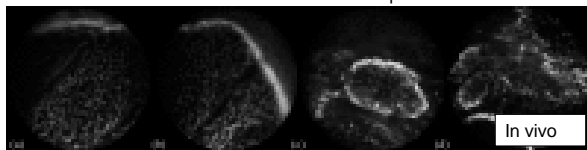
По литературным данным miR-101-3p индуцирует апоптоз, ингибирует пролиферацию, инвазию и метастазирование клеток рака молочной железы, повышает чувствительность трижды негативного рака молочной железы к паклитакселу [Li CY et al. Med Sci Monit. 2017;23:1857-1871].

## Микроскопия in vivo



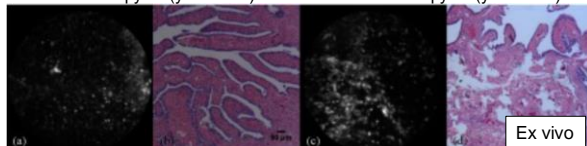
Неизменный эпителий маточной

Серозная трубная интраэпителиальная



Неизменный эпителий маточной трубы (участок 1)

Неизменный эпителий маточной трубы (участок 2)



## Конфокальный микролапароскоп vs. миниатюрный фаллопоскоп



Конфокальный микролапароскоп, 2,2 мм в диаметре



Миниатюрный фаллопоскоп, 0,8 мм в диаметре

**Фаллопоскоп** - комбинация оптической когерентной томографии и широкопольного объектива в едином корпусе диаметром менее 1 мм

[J Biomed Opt.](#) 2014 Nov;19(11):116010  
[Biomed Opt Express.](#) 2017 Jan 1; 8(1): 124–136

### Поиск новых маркеров для


Gynecology & Obstetrics

Use of Blood-based mRNA profiling to Identify Biomarkers for Ovarian Cancer Screening

**HHS Public Access**  
 Author manuscript  
 Gynecol/Oncol. Author manuscript; available in PMC 2017 February 15.  
 Published in final edited form as:  
 Gynecol/Oncol. 2016 January ; 140(1): 138-144. doi:10.1016/j.ygyno.2015.10.021.

**Identification of novel candidate plasma metabolite biomarkers for distinguishing serous ovarian carcinoma and benign serous ovarian tumors.**

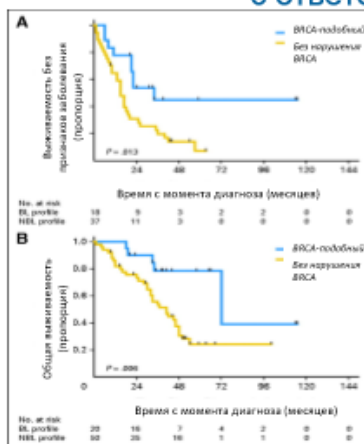
- Микро РНК
- Липидный профиль
- Гликаны
- Протеомика
- Масспектрометрия



thelial ovarian cancer

**Plasma lipidomics profiling identified lipid biomarkers in distinguishing early-stage breast cancer from benign lesions**

## Каким образом дефицит *BRCA* связан с ответом на ХТ?



Konstantin Korovin PA et al. J Clin Oncol. 2010 Aug 1;28(22):3555-61

У больных серозным раком яичников, дефицитным по *BRCA* (либо *BRCA* mut, либо обладавшим экспрессионным *BRCA*-подобным профилем) существенно повышается эффективность терапии препаратами платины, и, соответственно, выживаемость без прогрессирования (34 месяца в сравнении с 15 месяцами; log-rank  $P < 0,013$ ) и общая выживаемость (72 месяца в сравнении с 41 месяцем; log-rank  $P < 0,006$ )

Слайд И.А. Демидовой. Онкогинекология РООП 2017

### Первые результаты программы

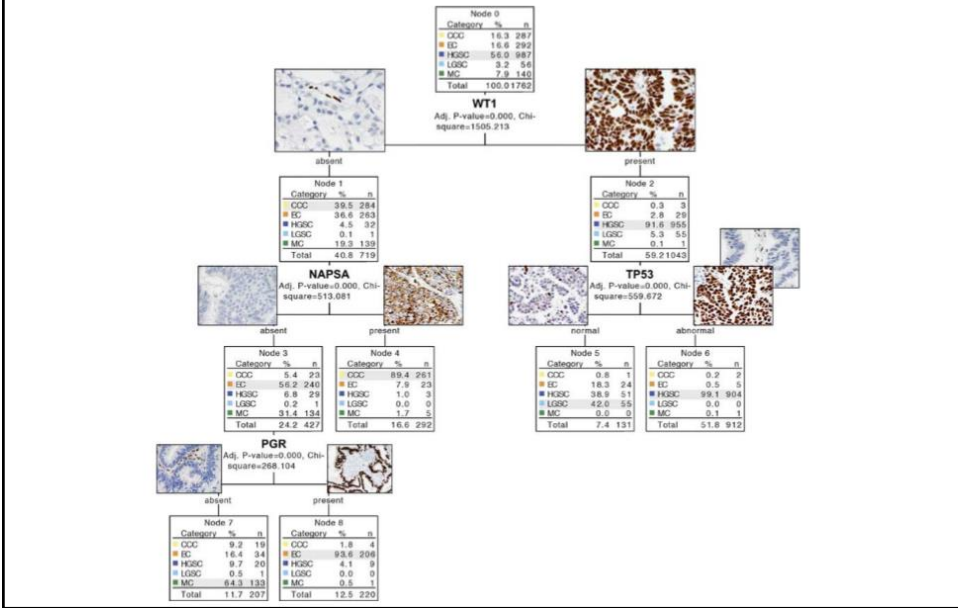
- С мая 2016 года по январь 2017 было исследовано 1385 образцов пациенток с платиночувствительным рецидивом РЯ из всех субъектов РФ.
- После первого этапа тестирования (ПЦР) герминальные фаундерные мутации были обнаружены у 16,6% пациенток из славянской группы и у 11,8% - из других этнических групп. При этом самая частая славянская мутация с.5266dupC обнаруживалась у 11,4% славянок и у 6% больных других национальностей.
- Наиболее интересные результаты были получены для 148 славянских пациенток с семейным и личным анамнезом. В этой группе количество мутаций основателя приближалось к 20% (19,5%), а редкие мутации были выявлены у 17,5% больных. Таким образом, с помощью проведения второго этапа тестирования мутации *BRCA1/BRCA2* были обнаружены в целом у 37% пациенток
- Мутации генов *BRCA1/BRCA2* значительно чаще выявлялись у пациенток до 50 лет (31% vs 21%,  $p < 0,01$ ).
- Результаты гистологического исследования показали, что образцы опухоли больных с мутациями *BRCA1/BRCA2* отличались более высокой степенью злокачественности по сравнению с образцами больных без мутаций (29,5% vs 19,5%,  $p = 0,01$ )

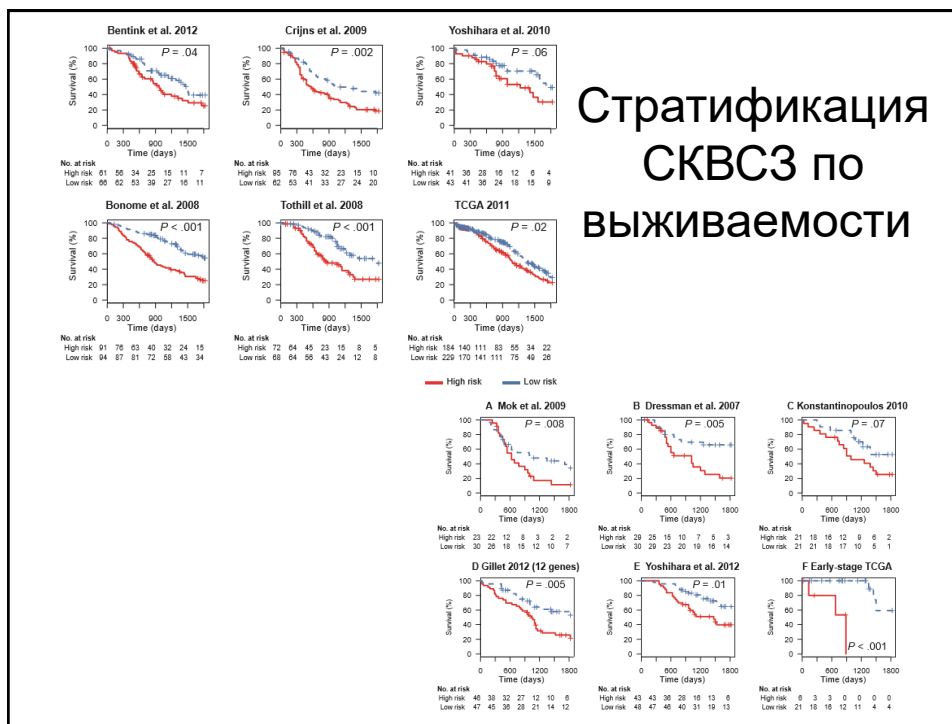
RUS SCO

Слайд И.А. Демидовой.  
Онкогинекология РООП 2017

# Молекулярная стратификация рака яичников

## An Immunohistochemical Algorithm for Ovarian Carcinoma Typing

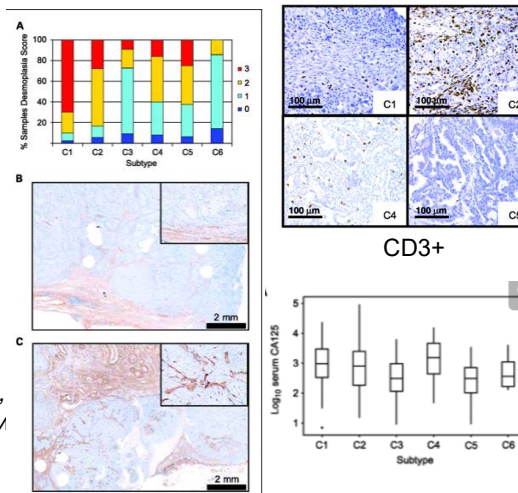




## Four distinct HGS subtypes

### R. Tothill et al. B

1. **C1 тип** -выраженный стромальный ответ, десмоплазия, активация миофибробластов, эндотелиальных клеток, перicyтов, плохой прогноз
2. **C2 Иммунореактивный тип** (ассоциирован с инфильтрацией иммунными клетками)
3. C4. Тип с маловыраженным стромальным ответом.
3. C5 **Мезенхимальный тип**: активация генов *HOXA7*, *HOXA9*, *HOXA10*, *HOXD10*, *SOX11*, *HMGA2*, *TOX*, *TCF7L1*). Усиление экспрессии компонентов сигнальных путей WNT/ $\beta$ -catenin и cadherin (в том числе *N-cadherin* и *P-cadherin*)

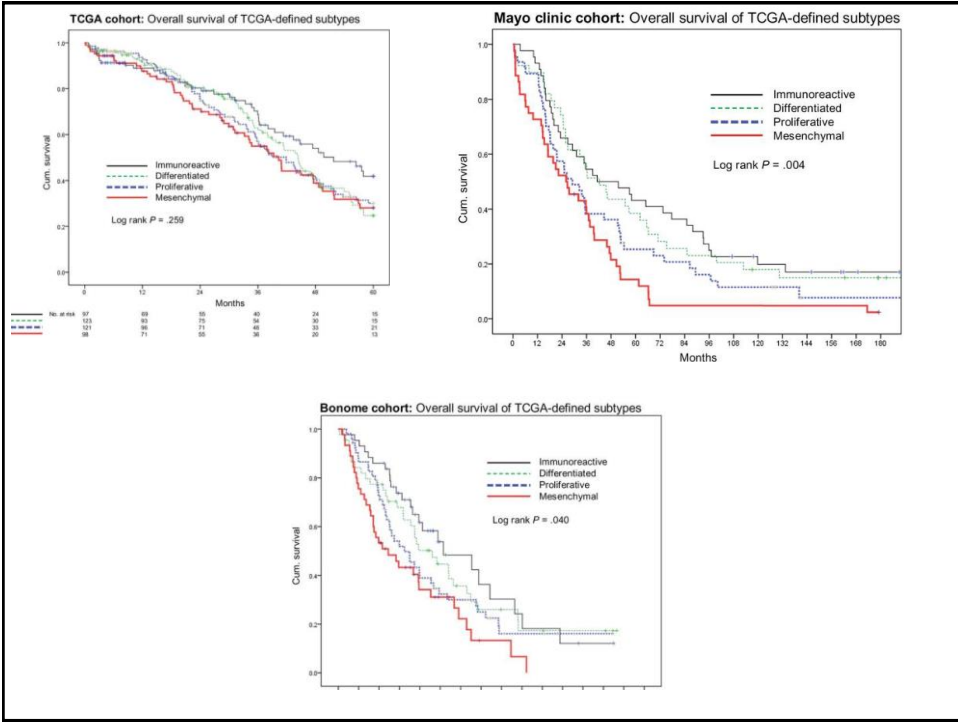
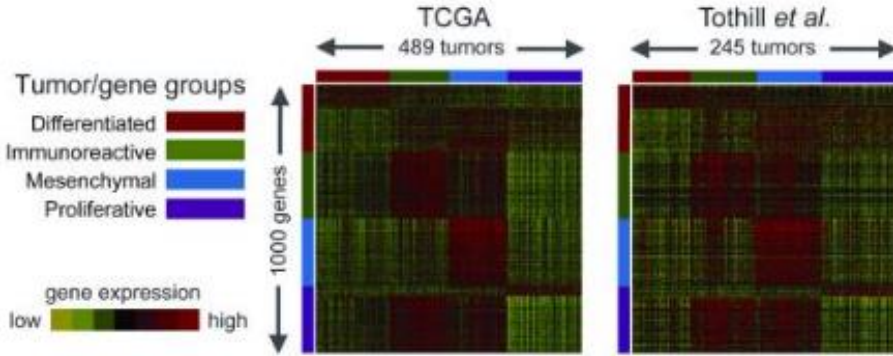


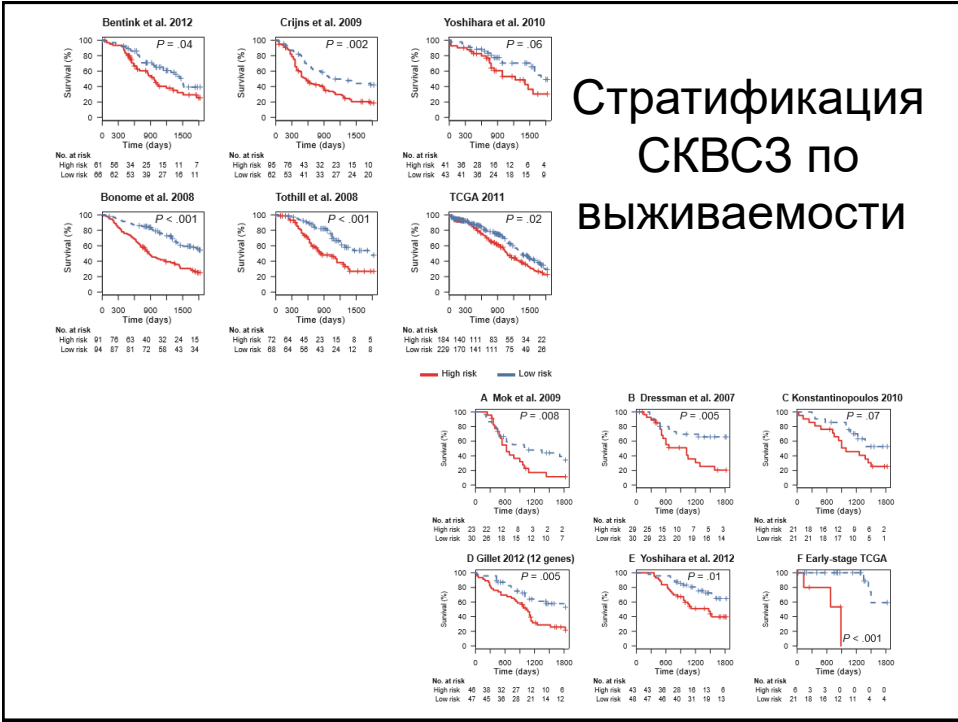
Гладкомышечный  
актин-альфа



# TCGA

- Иммунореактивный тип
- Проллиферативный тип
- Дифференцированный типа
- Мезенхимальный тип





## Стратификация групп прогноза при субоптимальной циторедукции

**Выпуск 10 - 2018**

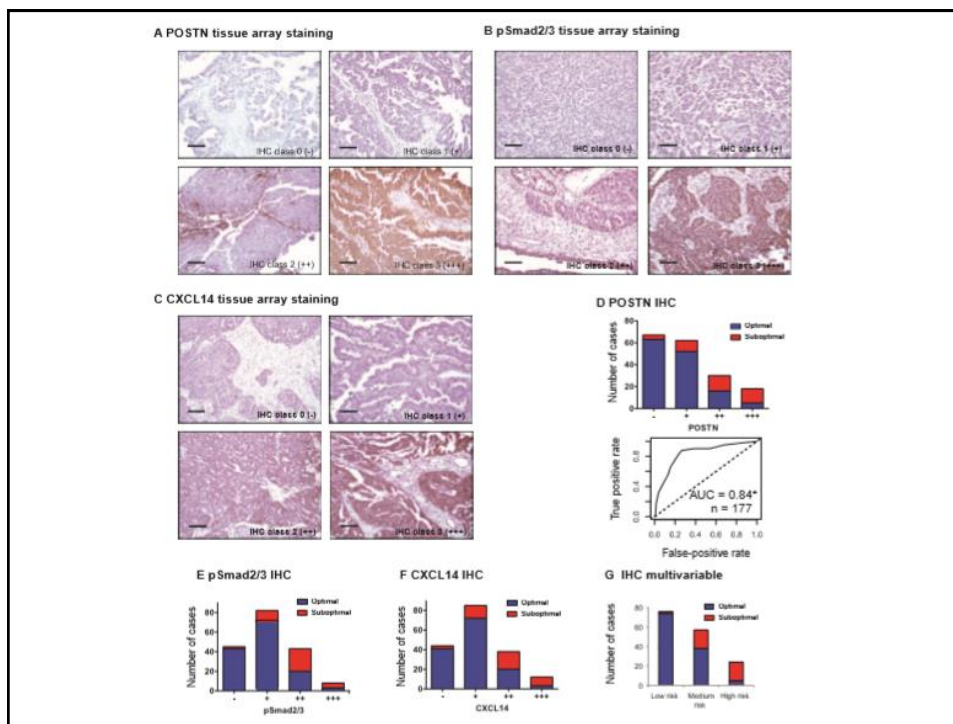
### ОПТИМАЛЬНАЯ ЦИТОРЕДУКЦИЯ ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ. ЖЕЛАЕМОЕ И ДЕЙСТВИТЕЛЬНОЕ



**Жуков Владимир**  
Руководитель отдела онкологической помощи подросткам и молодежи

Уже после операции (от 1 до 100 дней) у 75% пациентов выявлено между операцией и КТ состояние между 4 стадиями, у 25% из 627 (48%) больных, операция у которых была выполнена субоптимально как по объему, так и по качеству, выявлены признаки остаточной опухоли размером более 1 см. При этом у половины из них 40% (так у половины) выявлено их отсутствие, остальные выявлены субоптимально как по объему, так и по качеству (операция была выполнена более селективно). Наиболее часто остаточная опухоль обнаруживалась в трансверситальном для циркулярного сканирования отделе брюшной полости – правый верхний квадрант живота (38,6%), retroperitoneальном пространстве (28,2%) и левом верхнем квадранте живота (14,7%).





**Nanostring technology в  
 типировании серозных  
 карцином высокой степени  
 злокачественности**

## NanoString's nCounter technology



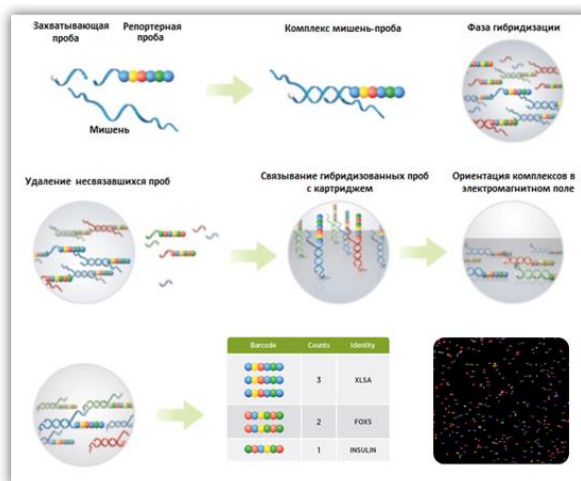
- Единовременное измерение экспрессии сотен генов-мишеней/микроРНК и десятков белков в одной реакции
- Высокая чувствительность (<1 копии на клетку)
- Полностью автоматизированная система
- Отсутствие этапов энзиматической обработки образцов
- Малые объемы исходного материала
- 10 контрольных образцов, включенных в каждый наб

Технология Nanostring позволяет проводить прямое мультиплексное измерение транскрипционной активности генов и уровня трансляции соответствующих им белков, профилирование экспрессии микроРНК и оценку копияности генов (в том числе в одной клетке). В основу метода положено мечение мишеней уникальными цветовыми штрих-кодами, прикрепленными к мишень-специфичным зондам и их последующая детекция.

1 Гибридизация

2 Очистка и иммобилизация

3 Подсчет



1. Гибридизация. К мишени прикрепляется сигнальная проба (Reporter Probe) и захватывающая проба (Capture Probe). Благодаря первому возможна детекция мишени, последнему – иммобилизация комплекса.
2. Очистка и иммобилизация. После гибридизации излишки реактивов удаляются, а комплекс **проба-мишень** иммобилизуется на специальном картридже
3. Детекция. Картриджи помещаются в цифровой анализатор для детекции сигнала и получения первичных данных.

- Тестирование минимально необходимой панели для верной верификации 4 субтипов серозной карциномы высокой степени злокачественности (48 генов) (J Pathol 2015; 236: 272–277)

Table 1. Classification accuracies of fresh frozen and FFPE samples on TaqMan-based low-density arrays, Fluidigm, Illumina targeted RNA, and Nanostring platforms compared with Affymetrix microarrays

Subtype	Taqman (48 genes)		Fluidigm (48 genes)		Illumina (42 genes)		Nanostring (48 genes)	
	Fresh frozen (post-optimization) Score (%)	FFPE Score (%)	Fresh frozen Score (%)	FFPE (modified protocol) Score (%)	Fresh frozen Score (%)	FFPE (modified protocol) Score (%)	Fresh frozen Score (%)	FFPE Score (%)
C1	20/23 (87)	10/12 (83.3)	14/16 (87.5)	7/7 (100)	6/7 (85.7)	4/4 (100)	15/15 (100)	
C2	19/20 (95)	13/13 (100)	12/14 (85.7)	6/6 (100)	5/7 (71.4)	4/4 (100)	16/13 (177)	
C4	17/20 (85)	9/11 (81.8)	11/22 (50)	5/5 (100)	5/7 (71.4)	4/4 (100)	10/16 (62.5)	
C5	18/21 (85.7)	11/12 (91.7)	8/14 (57.1)	4/5 (80)	6/7 (85.7)	5/5 (100)	11/14 (79)	
Overall	74/84 (88)	43/40 (89.6)	45/66 (68.2)	22/23 (95.7)	22/28 (78.6)	17/17 (100)	46/58 (79.3)	

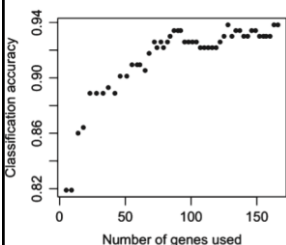
Subtype	Fresh Frozen					FFPE				
	C1	C2	C3	C4	C5	C1	C2	C3	C4	C5
C1	10	1	1	0	0	14	1	0	1	0
C2	0	13	0	0	0	2	12	0	0	0
C4	0	2	0	9	0	6	4	0	11	1
C5	1	0	0	0	11	3	1	0	2	8

Subtype	Illumina					FFPE (modified protocol)				
	C1	C2	C3	C4	C5	C1	C2	C3	C4	C5
C1	7	0	0	0	0	6	1	-	0	0
C2	0	6	0	0	0	2	5	-	0	0
C4	0	0	0	5	0	1	1	-	5	0
C5	0	0	1	0	4	0	0	-	1	6

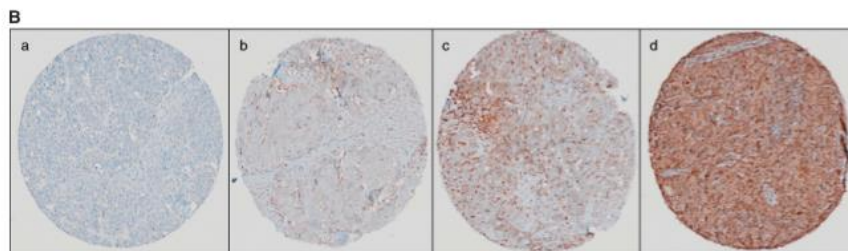
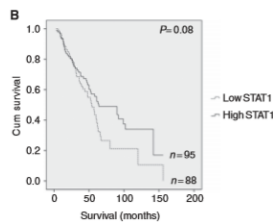
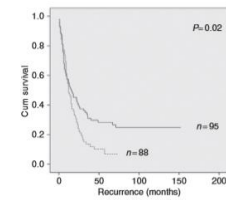
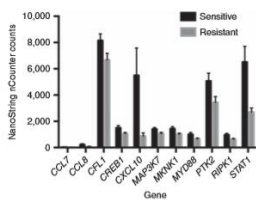
  

Subtype	Nanostring					FFPE				
	C1	C2	C3	C4	C5	C1	C2	C3	C4	C5
C1	4	0	-	0	0	15	0	-	0	0
C2	0	4	-	0	0	3	10	-	0	0
C4	0	0	-	4	0	1	5	-	10	0
C5	0	0	-	0	5	1	1	-	1	11



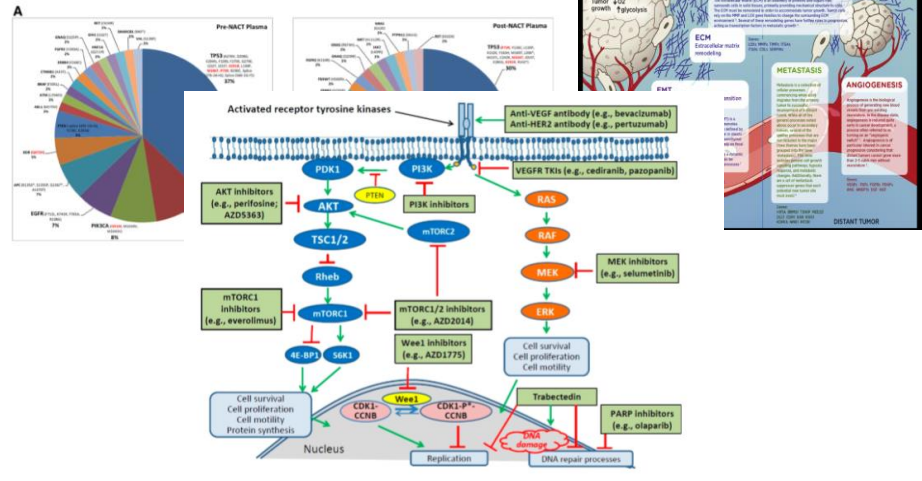
- Панель из 200 генов была представлена для стратификации пациентов с оптимальной и субоптимальной циторедукцией с выявлением 8 топ-генов (MYCN, PTCH1, MMP11, GREM1, PMEPA1, FABP4, ASPN and TGFB3 J Clin Oncol 36, 2018 (suppl; abstr 5569)

- Химиочувствительные и химиорезистентные опухоли были исследованы с помощью провоспалительной панели Nanostring (184 гена) Br J Cancer. 2015 Dec 22;113(12):1746



# Nanostring для типирования опухолей до и после неoadьювантной ХТ

Pan cancer panel (770 генов)



Mol Cancer Res. 2018 May;16(5):813-824  
Int. J. Mol. Sci. 2016. 17. 2113.

**WORLD OVARIAN CANCER DAY**

**May 8**

[ovariancancerday.org](http://ovariancancerday.org)

Tweet with the #WOCD or #WorldOvarianCancerDay hashtag  
facebook.com/WorldOvarianCancerDay

Share this graphic to help spread awareness.

Ovarian Cancer Prevention, Detection and Treatment

**JOHNS HOPKINS MEDICINE**

<http://www.ovariancancerprevention.org/>

**OCRFA** Ovarian Cancer Research Fund Alliance

FOR PATIENTS GET INVOLVED | RESEARCH ADVOCACY EVENTS ABOUT US CONTACT

**Research. Advocacy. Support.**

<https://ocrfa.org/>

## Спасибо за внимание!