

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

*На правах рукописи*



Юрова Мария Владимировна

**Оптимизация дифференцированного подхода к ведению пациентов  
с образованиями яичников**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

14.01.12 – Онкология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научные руководители:**

кандидат медицинских наук, доцент

Павлович Станислав Владиславович

кандидат медицинских наук

Хабас Григорий Николаевич

Москва – 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>5</b>
<b>ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ ПОЛОЖЕНИЕ ПРОБЛЕМЫ ОПУХОЛЕЙ И ОПУХОЛЕВИДНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ЯИЧНИКОВ В КЛИНИЧЕСКОЙ И НАУЧНОЙ ОБЛАСТЯХ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....</b>	<b>15</b>
1.1 Эпидемиология и классификация опухолей и опухолевидных образований яичников.....	15
1.2 Факторы риска возникновения опухолей и опухолевидных образований яичников.....	25
1.3 Возможности и ограничения современных методов диагностики, мониторинга и прогнозирования исходов лечения пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников .....	26
1.4 Возможности применения омиксных технологий в диагностике опухолей и опухолевидных образований яичников .....	33
1.4.1 Определение липидного профиля опухолевых тканей и биологических жидкостей при помощи метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией.....	34
1.4.2 Изучение метаболома крови методом спектроскопического ядерного магнитного резонанса для диагностики опухолей и опухолевидных образований яичников .....	43
1.4.3 Исследование малых некодирующих рибонуклеиновых кислот крови методом высокопроизводительного секвенирования в норме и при заболеваниях яичников .....	44
1.5 Лечебная тактика при злокачественных новообразованиях яичников.....	46
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>	<b>50</b>
2.1 Дизайн и конечные точки исследования.....	51
2.2 Клиническая характеристика пациентов.....	53
2.2.1 Данные методов визуальной диагностики. Семиотика.....	56
2.2.2 Хирургическое лечение пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников .....	58
2.2.3 Гистологическое и иммуногистохимическое исследования тканей опухолей и опухолевидных образований яичников.....	60
2.2.4 Тактика ведения пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников...	62
2.3 Методы исследования.....	63
2.3.1 Клинико-лабораторные и инструментальные методы исследования.....	63
2.3.2 Специальные методы исследования.....	65
2.3.3 Методы статистической обработки данных.....	73
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....</b>	<b>76</b>
3.1. Диагностическая точность методов исследования пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников.....	76
3.2 Определение диагностической точности применения омиксных технологий при доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолях и опухолевидных образованиях яичников.....	100

3.2.1	Диагностика доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолей и опухолевидных образований яичников при помощи определения липидного профиля крови методом ВЭЖХ-МС.....	100
3.2.2	Исследование метаболизма липидов при пограничных опухолях яичников.....	110
3.2.3	Исследование липидного профиля крови пациентов с I-II стадиями рака яичников высокой степени злокачественности.....	121
3.2.4	Сравнение диагностической точности данных ВЭЖХ-МС крови и определения опухолевого антигена СА 125.....	134
3.2.5	Изучение взаимосвязи повышения СА 125 с изменением метаболического профиля при раке яичников высокой степени злокачественности.....	137
3.2.6	Характеристика спектра экзосомальных микроРНК плазмы крови при раке яичников и эндометриоидных кистах .....	142
3.3	Предикция исходов проводимого лечения рака яичников на основании данных предоперационной диагностики.....	154
3.3.1	Выбор лечебной тактики и прогнозирование периоперационных исходов лечения и выживаемости пациентов с распространенным раком яичников .....	154
3.3.2	Выявление системного изменения липидного профиля после нерадикальных операций по поводу серозных новообразований яичников. ....	175
3.3.3	Определение липидного профиля крови после предоперационной химиотерапии.....	177
3.3.4	Прогнозирование исходов лечения пациентов с распространенными стадиями рака яичников высокой степени злокачественности по липидному профилю крови .....	180
<b>ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....</b>		<b>190</b>
4.1	Оценка возможностей клинических методов диагностики опухолей и опухолевидных образований яичников.....	190
4.2	Анализ дифференциально-диагностической ценности применения омиксных технологий при доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолях и опухолевидных образованиях яичников .....	191
4.2.1	Анализ возможностей применения метода исследования липидного профиля крови для дифференциальной диагностики опухолей и опухолевидных образований яичников.....	191
4.2.2	Анализ взаимосвязи повышения СА 125 с метаболическими изменениями при раке яичников высокой степени злокачественности.....	200
4.2.3	Сравнение спектров экзосомальных микроРНК плазмы крови при раке яичников высокой степени злокачественности и эндометриоидных кистах яичников .....	202
4.3	Предикция исходов лечения пациентов с серозным раком яичников высокой степени злокачественности на основании данных предоперационной диагностики.....	208
4.3.1	Оценка предикторной ценности клинических методов предоперационной диагностики и выбор лечебной тактики при распространенном раке яичников.....	208
4.3.2	Анализ возможности прогнозирования исходов лечения пациентов по изменению липидного профиля крови.....	216
<b>ВЫВОДЫ.....</b>		<b>219</b>

<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>	<b>220</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....</b>	<b>221</b>
<b>СПИСОК ТЕРМИНОВ.....</b>	<b>223</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>224</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ А. Алгоритм ведения пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников.....</b>	<b>244</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Оптимизация алгоритма ведения пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников на основании применения молекулярных маркеров, выявленных при помощи омиксных технологий.....</b>	<b>246</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ В. Алгоритм дифференцированного подхода к ведению пациентов с распространенными стадиями серозного рака яичников высокой степени злокачественности.....</b>	<b>247</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Диагностика опухолей и опухолевидных образований яичников (ООВОЯ) представляет собой одну из наиболее актуальных и сложных клинических задач для современной гинекологии и онкологии. Сложности обусловлены отсутствием патогномичных проявлений заболеваний придатков, низкой специфичностью и ограниченной доступностью диагностических методов. В связи с малосимптомным течением опухоли и опухолевидные образования могут манифестировать только при достижении увеличенных размеров в виде острого хирургического состояния (разрыв кисты или кровоизлияние, компрессия соседних органов), - до 80% всех перекрутов придатков происходит вследствие опухолей и опухолевидных образований яичников [105], [249]. Отсутствие характерных симптомов при злокачественных новообразованиях (ЗНО) яичников приводит к выявлению заболевания при выраженном распространении опухолевого процесса. Отсутствие общепризнанного скрининга ЗНО яичников, с одной стороны, способствует вышеописанным сложностям ранней и дифференциальной диагностики, с другой стороны, снижает хирургические и онкологические риски, ассоциированные с рутинным выполнением биопсий и оперативных вмешательств для морфологической верификации диагноза. Поэтому необходим дальнейший поиск новых неинвазивных и безопасных методов и мер, направленных на повышение эффективности диагностического этапа обследования и последующего ведения пациентов.

Наибольший удельный вес в структуре онкологической заболеваемости женщин имеют ЗНО органов репродуктивной системы (38,8%), при этом опухоли половых органов составляют 17,6% среди ЗНО всех локализаций у женщин (Рисунок 1.1). В общей онкологической заболеваемости обоих полов регистрируется поражение органов репродуктивной системы у 2,2% населения всех возрастов, у 3,4% населения до 30 лет, у 6,2% женщин до 30 лет, у 6,0% женщин в возрасте 30 - 59 лет. В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями женского населения Российской Федерации (РФ) на опухоли яичников приходится 4,1% [6]. От 3 до 14% пациентов составляют женщины репродуктивного возраста [6], [9], [33], [94].

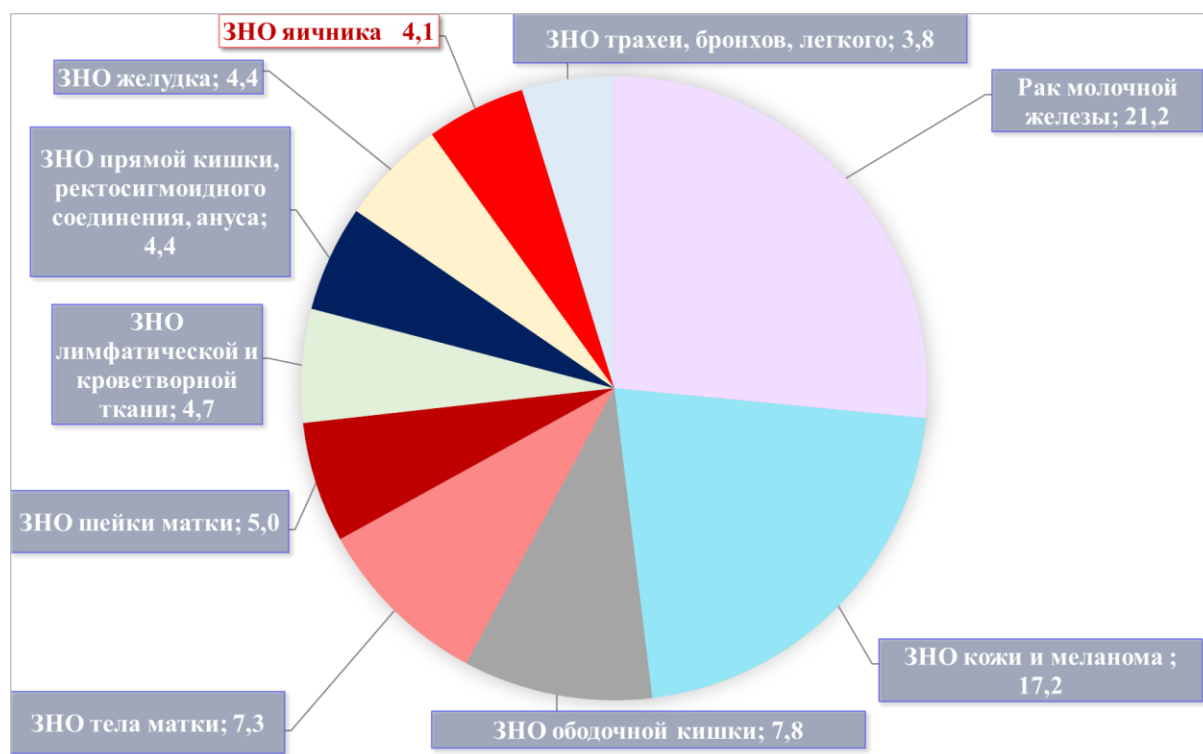


Рисунок 1.1 - Структура заболеваемости злокачественными новообразованиями женского населения Российской Федерации в 2019 г. [6]

Определение стадии злокачественных эпителиальных опухолей выполняется в соответствии с классификацией Международной федерации гинекологов и акушеров (FIGO, International Federation of Obstetrics and Gynaecology) и согласно TNM (8-е издание, 2017) [16]. Выявление I–II стадий ЗНО яичников по классификации FIGO заболевания ассоциировано с улучшением исходов. Активное выявление рака яичников (РЯ) в России за 10 лет возросло с 9,2 до 19,1 на 100 000 населения [6], [241], однако, у 59,6% пациентов в 2019 г. ЗНО яичников было выявлено на III–IV стадиях [6], выживаемость при которых не превышает 44%, что практически в 2 раза ниже по сравнению с 90% пятилетней выживаемостью после радикального лечения заболевания, выявленного на ранней стадии [31], [116]. Мировыми сообществами принят консенсус о нецелесообразности популяционного скрининга ЗНО яичников, тем более посредством инвазивных методов диагностики (биопсия и гистологическое исследование ткани опухоли), которые являются при этом наиболее точными.

По данным United States Preventive Services Task Force, скрининг РЯ считается нецелесообразным в связи с высоким риском проведения необоснованных оперативных вмешательств у бессимптомных женщин [211]. Необходим поиск и исследование новых методов выявления, дифференциальной диагностики, мониторинга и прогнозирования исходов лечения, которые должны учитывать биологические особенности опухоли. Ключевое значение отведено повышению специфичности клинических методов [1], а также разработке новых, в том числе малоинвазивных, тестов [2], [3], [4], [11].

В связи с онкологической настороженностью при выполнении ультразвукового исследования (УЗИ) органов малого таза проводится оценка наличия признаков злокачественного процесса, - на этом этапе дифференциально-диагностического поиска эхографическое описание должно отображать признаки, характерные для доброкачественного, злокачественного, или обоих (промежуточный тип) процессов [84], [224]. Пациенты с доброкачественными образованиями яичников могут находиться под наблюдением гинеколога, при подозрении на злокачественный процесс пациенты должны быть направлены на консультацию к гинекологу-онкологу [84], [228]. Решение в пользу консервативного ведения или оперативного вмешательства основывается на обобщении данных клинического обследования (жалобы пациента, данные репродуктивного и семейного анамнеза) и методов объективной (лабораторные и визуальные) диагностики [204]. В 2 - 15% случаев проведение хирургического вмешательства по поводу доброкачественных ООВОЯ сопряжено с рисками потенциальных периоперационных осложнений, снижением или потерей фертильности, психологическим стрессом и экономическими последствиями [105]. Например, риск малигнизации простых и эндометриоидных кист (ЭКЯ) составляет менее 1 - 2% независимо от менопаузального статуса женщины [82], [171]. Злокачественный потенциал тератом выше и составляет 2 - 4,8%; наиболее распространенным ЗНО, ассоциированным с тератомой, является плоскоклеточный рак [171], [220]. Размеры ООВОЯ  $\geq 10$  см, выявление у пациентов постменопаузального возраста, наличие солидного компонента и характерной сосудистой структуры сопровождаются повышением риска злокачественного характера данных образований до 1 - 10%, в связи с чем рассматривается вопрос о выборе в пользу хирургической тактики [144], [220]. Правильно установленный диагноз является залогом своевременного надлежащего лечения и более благоприятного прогноза. Поскольку УЗИ органов малого таза является «базовым» методом диагностики [34], данные которого непосредственно влияют на принятие клинических решений [95], усовершенствование именно в этом звене сопряжено с повышением точности обследования пациентов и выбора тактики при ООВОЯ [105].

Развитие диагностических методов дополняет имеющиеся данные о канцерогенезе и молекулярных особенностях ООВОЯ, в связи с чем за последние годы произошел пересмотр классификаций, появились новые препараты, схемы и методы лечения. Например, результатом работы нескольких исследовательских групп [45], [166], использовавших инструменты трансляционных технологий, стало подразделение РЯ ВСЗ на четыре молекулярных подтипа (C1.MES, C2.IMM, C4.DIF и C5.PRO, - мезенхимальный, иммунореактивный, дифференцированный и пролиферативный подтипы, соответственно) [72] благодаря созданию кластеров, различных по экспрессии матричной рибонуклеиновой кислоты (РНК). На основании выявленных мультигенных признаков (дифференциальная экспрессия 101 гена) в

результате исследований консорциума [58], [175] были установлены различия общей выживаемости пациентов с ЗНО яичников более, чем на 7 лет, что является следствием биологических различий опухолей яичников [194].

Таким образом, диагностика патологических пролиферативных процессов органов женской репродуктивной системы является актуальной проблемой современной гинекологии. Наиболее сложными являются вопросы дифференциальной диагностики доброкачественных, пограничных и злокачественных ООВОЯ различных гистотипов при помощи неинвазивных и малоинвазивных методов [174], [66]. Вопрос по проблеме остается открытым и требует усилий по изучению диагностики заболевания, особенно посредством неинвазивных методов, в связи с чем акцент многих исследований сделан на жидкостной биопсии при ООВОЯ [79], [151].

### **Степень разработанности темы исследования**

По данным литературы, в мире проводятся исследования, направленные на поиск маркеров крови, обеспечивающих повышение точности диагностики образований яичников, а также предикторов, позволяющих до инициации лечения выбрать оптимальный метод хирургического и терапевтического воздействия. Опубликованные в Российской Федерации исследования, посвященные изучению возможностей омиксных технологий, ограничены единичными сообщениями или не охватывают применение одновременно при различных опухолях и опухолевидных образованиях яичников.

Наиболее существенными достижениями для дифференциальной диагностики ООВОЯ можно считать открытие и внедрение в клиническую практику маркера СА 125, комплексных индексов учета данных серологического и эхографического исследований, а также данных МРТ органов малого таза и брюшной полости [84]. Отсутствие оптимальных методов высокоточной ранней и дифференциальной диагностики серозного РЯ поддерживает тенденцию установления диагноза на прогностически неблагоприятных III-IV стадиях заболевания.

Верифицированный диагноз при ООВОЯ устанавливается на основании гистологического исследования оперативно удаленных тканей яичников, однако, данный метод сопряжен с инвазивными вмешательствами, что ограничивает его широкое применение. Возможности существующих неинвазивных методов диагностики ограничены, в связи с чем необходимы исследования, направленные на их усовершенствование.

В последнее время активные исследования ведутся в поиске маркеров, информативность, точность и доступность определения которых позволит внедрить их в качестве скринингового метода диагностики. Необходим переход на высокоточную молекулярную визуализацию, который заключается в разработке и внедрении новых методов диагностики благодаря достижениям в области автоматизации обработки постгеномных данных (протеомика,

метабомика, текстомика и геномика) [1], [4]. Жидкостная биопсия обеспечивает определение циркулирующих опухолевых клеток, их ДНК, микроРНК и экзосом, циркулирующих в крови. Имплементация достижений постгеномных исследований (протеомика, метабомика, текстомика и геномика) является перспективной для повышения диагностической и прогностической точности используемых методов, а также для дополнения фундаментальных данных о биохимических процессах, сопровождающих пролиферативные заболевания, в частности о канцерогенезе.

### **Цель исследования**

Усовершенствование дифференцированного подхода к ведению пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников на основании применения молекулярных маркеров, выявленных при помощи омиксных технологий.

### **Задачи исследования**

Задача 1. Оценить эффективность клинико-лабораторных и инструментальных методов диагностики опухолей и опухолевидных образований яичников.

Задача 2. Проанализировать диагностическую точность моделей, построенных на основании различий липидных профилей крови, при опухолях и опухолевидных образованиях яичников.

Задача 3. Изучить экспрессию экзосомальных микроРНК плазмы крови при распространенном серозном раке яичников и при наружном генитальном эндометриозе с кистозным поражением яичников для выявления потенциальных маркеров данных заболеваний.

Задача 4. Методом спектроскопии ядерного магнитного резонанса плазмы крови выявить взаимосвязь изменений метаболитов и содержания маркера СА 125 крови пациентов с распространенными стадиями серозного рака яичников высокой степени злокачественности.

Задача 5. Определить прогностическую значимость маркеров крови, выявленных при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией, для предикции выживаемости без прогрессирования пациентов с III-IV стадиями рака яичников высокой степени злокачественности.

Задача 6. Усовершенствовать алгоритм ведения пациентов с изученными опухолями и опухолевидными образованиями яичников на основании полученных данных.

### **Научная новизна**

Изучены диагностическая точность применения многофакторной модели ADNEX (Assessment of Different Neoplasia in the Adnexa), разработанной международной группой IOTA [174], [84], при доброкачественных (серозная цистаденома, тератома, эндометриоидные кисты), пограничных и злокачественных (серозный рак яичников высокой или низкой степени злокачественности) ООВОЯ. На основании комплексного применения клинических и

лабораторно-инструментальных методов построены прогностические модели, демонстрирующие точность диагностических методов и ценность исследования показателей для предикции исходов лечения.

На основании выявленных при помощи метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС) и программного обеспечения уникальных липидных профилей крови впервые установлена возможность дифференциальной диагностики изученных в рамках диссертационной работы заболеваний яичников. Также выявлены липидные предикторы различных клинических и онкологических исходов лечения пациентов с распространенными стадиями серозного РЯ ВСЗ. При помощи высокопроизводительного секвенирования нового поколения плазмы крови изучены экзосомальные маркеры РЯ ВСЗ (miR-100-5p, -141-3p, -199a-5p, -200b-3p, -203a-3p, -224-5p, -4488) и ЭКЯ при наружном генитальном эндометриозе (miR-486-5p, -3184-3p, -4732-5p, -423-5p, -92b-5p). Методом спектроскопического ядерного магнитного резонанса (ЯМР) установлено изменение содержания ряда метаболитов плазмы крови и взаимосвязь данного изменения с СА 125 при распространенных стадиях РЯ ВСЗ. На основании изменений липидного профиля, метаболитов и микроРНК крови в результате исследований диссертационной работы получены новые данные об изменении метаболитов при ООВОЯ, а также о динамике липидного профиля крови после химиотерапевтического лечения серозного РЯ ВСЗ и при рецидиве заболевания. Изученная диагностическая точность перечисленных методов позволяет рекомендовать внедрение новых данных молекулярной визуализации для усовершенствования неинвазивной диагностики ООВОЯ.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Изучена диагностическая точность определения маркеров крови (СА 125, HE4, ROMA) и проведения УЗИ (в том числе с расчетом модели ADNEX) у пациентов с ООВОЯ. Изучена предикторная ценность клинико-лабораторных факторов (возраст, ИМТ, коморбидность, нутритивный статус, маркеры крови, выраженность канцероматоза, объем асцита, наличие и локализация метастазов, первый этап проведенного лечения) для прогнозирования онкологических исходов, а именно: выполнение циторедукции без остаточной опухоли, чувствительность опухоли к платиносодержащей терапии, длительность выживаемости без признаков прогрессирования пациентов с распространенным РЯ ВСЗ.

Проведено исследование липидного профиля, метаболитов и экзосомальных микроРНК крови при ООВОЯ. Показана возможность идентификации различий липидного состава крови пациентов с доброкачественными, пограничными и злокачественными (в том числе ранними стадиями серозного РЯ ВСЗ) ООВОЯ, - отмеченные закономерности позволяют рассматривать исследование панелей липидов в качестве перспективных уточняющих маркеров, исследование

которых в крови пациентов с ООВОЯ позволит существенно сократить круг дифференциально - диагностического поиска при неоднозначных данных, полученных при анализе клинических инструментально-лабораторных методов диагностики.

Также изучены возможные механизмы изменений липидов, метаболитов и микроРНК при доброкачественных, пограничных и злокачественных ООВОЯ. При распространенном РЯ ВСЗ и РНГЭ III-IV стадий с кистозным поражением яичников методом высокопроизводительного секвенирования были выявлены значимые различия экспрессии экзосомальных микроРНК, что свидетельствует о патогенетическом различии данных двух процессов и возможности применения данных микроРНК на этапе проведения дифференциально-диагностического поиска. Изучение метаболом-ассоциированных изменений СА 125 крови и экспрессии экзосомальных микроРНК при РЯ ВСЗ дополнило данные о возможных механизмах канцерогенеза и прогрессирования данного злокачественного процесса. Полученные данные позволяют судить о биологическом поведении опухоли, механизмах канцерогенеза, метастазирования и прогрессирования РЯ ВСЗ.

Экспериментальные данные подтверждают перспективность применения жидкостной биопсии для исследования маркерного потенциала липидов, метаболитов и микроРНК. Усовершенствование алгоритма неинвазивной диагностики при помощи внедрения новых данных молекулярной визуализации позволит более взвешенно выбирать тактику дальнейшего ведения пациентов в пользу динамического наблюдения или оперативного вмешательства при доброкачественных, пограничных и злокачественных ООВОЯ.

Материалы и результаты исследования применяются в учебном процессе на кафедре акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии ИПО ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и на кафедре акушерства и гинекологии ДПО ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

### **Методология и методы диссертационного исследования**

Для достижения поставленной цели и решения задач проведены ретроспективное и проспективные исследования, в которые суммарно были включены 350 человек.

Для изучения факторов, влияющих на диагностику серозного рака яичников высокой степени злокачественности, эффективность проводимого лечения и исходы, первым этапом было проведено ретроспективное исследование.

Вторым этапом диссертационной работы при помощи клинических и специальных методов (ВЭЖХ-МС, ЯМР, высокопроизводительное секвенирование нового поколения) в проспективном режиме были изучены и сопоставлены диагностическая точность и прогностическая значимость онкомаркеров, микроРНК в составе экзосом, метаболитов и

липидов крови. Проведен поиск маркеров ранней и дифференциальной диагностики, мониторинга чувствительности опухоли к проводимой химиотерапии, наступления рецидива заболевания и предикции исходов лечения.

Диссертационное исследование было одобрено комиссиями по этике биомедицинских исследований, - Локальным этическим Комитетом ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 16-19 от 05.12.2019) и ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России по вопросам медицинской этики (протокол № 10 от 05 декабря 2019 г.).

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Информативность данных инструментально-лабораторного этапа обследования пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников ограничена. Выполнение УЗИ с расчетом показателей модели ADNEX является доступным и воспроизводимым методом дифференциальной диагностики, повышающим точность исследования при серозных цистаденомах, пограничных опухолях, раке яичников низкой и высокой степеней злокачественности.

2. Диагностическая точность липидного профилирования крови сопоставима с результатами эхографического и маркерного исследований, что позволяет рекомендовать данный неинвазивный метод в качестве уточняющего исследования для дифференциальной диагностики доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолей и опухолевидных образований яичников.

3. Исходно более высокий СА 125, изменение липидного профиля (повышение триглицерида 18:0 18:1 18:2 и плазменилэтаноламина 16:0/22:6 до первичной циторедукции и снижение плазменилхолинов 18:0/18:2 и 24:1/20:5 до интервальной циторедукции), более старший возраст пациентов, начало лечения с неoadъювантной химиотерапии и выполнение циторедуктивной операции с остаточной опухолью являются предикторами менее благоприятных исходов лечения пациентов с распространенными стадиями серозного рака яичников высокой степени злокачественности.

### **Личный вклад автора**

Автор участвовал в выборе темы научной работы, разработке цели, задач и дизайна исследования, прохождении этических комитетов. Автор лично участвовал в лечебном процессе пациентов на всех этапах их пребывания в отделении инновационной онкологии и гинекологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России, выполнял сбор анамнеза, предоставлял ответы на вопросы пациента перед его подписью информированного добровольного согласия на использование образцов крови для диссертационного исследования.

Автором была проведена клиническая интерпретация инструментально-лабораторных результатов, статистическая обработка и обобщение полученных данных.

Полученные данные были представлены автором лично на российских и международных конгрессах и конференциях в виде докладов, а также изложены в форме полнотекстовых статей.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют формулам специальностей 14.01.01 – «Акушерство и гинекология», 14.01.12 – «Онкология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальностей, а именно 3 и 4 пунктам паспорта специальности «Акушерство и гинекология», 1, 2, 3 и 4 пунктам паспорта специальности «Онкология».

### **Степень достоверности результатов исследования**

Достоверность выполненных исследований подтверждается точностью регистрации первичной документации, в которой полностью отражен объем анамнестических, клинических, инструментальных, лабораторных и экспериментальных исследований, проведена статистическая обработка данных. Для получения репрезентативных данных первым этапом был произведен анализ наиболее высоко организованных исследований, преимущественно рандомизированных контролируемых исследований, мета-анализов и систематических обзоров, по теме диссертационной работы. Для правомочности интерпретации полученных онкологических исходов был проведен расчет минимальной необходимой выборки пациентов в группах, а также использованы методы современного статистического анализа клинко-лабораторных данных в том числе с проведением многофакторного анализа и построением прогностических моделей.

### **Апробация результатов**

По результатам исследований опубликована 21 работа, из них 10 полнотекстовых статей в журналах, индексируемых в базе данных Scopus/Web of Science, и 1 статья в издании, рекомендуемом высшей аттестационной комиссией, а также 10 тезисов. Основные положения диссертационной работы были представлены на российских и международных конгрессах и конференциях (II Международная морфологическая научно-практическая конкурс-конференция студентов и молодых ученых «Морфологические науки — фундаментальная основа медицины» (2017 г.), Конкурс научных работ весеннего интенсива «Инновационные достижения в онкологии: I do research» (2017 г.), XIV Международный конгресс по репродуктивной медицине (2020 г.), национальный Конгресс с международным участием ЛАБРИН (2020, 2021 гг.), XXVI Всероссийский конгресс с международным участием и специализированной выставочной экспозицией «Амбулаторно-поликлиническая помощь в

эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы» (2020 г.), ESGO, State-of-the-Art - Advances in Gynecologic Cancer (Copenhagen, Denmark, 2020 г.), «БИОМЕДТЕХ 2020» (Pharma's cool, Кластер БМТ Фонда «Сколково»), XXVII Международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (2020 г.), XIII Региональный научно-образовательный форум "Мать и дитя" (2020 г.), Всероссийский научно-образовательный форум «Мать и Дитя» (2020, 2021 гг.), Международный медицинский Форум «Вузовская наука. Инновации» (2021 г.), Международный конкурс исследовательских работ молодых ученых «High-level research» (2021 г.), Российский научно-практический конгресс «Гинекологическая эндокринология в возрастном аспекте: проблемы и решения» (2021 г.), III объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов (2021 г.), Национальный научно-образовательный конгресс «Онкологические проблемы от менархе до менопаузы» (2020, 2022 гг.).

Работа обсуждена на межклиническом заседании апробационной комиссии кафедры акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии ИПО ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 17 марта 2022 года (протокол № 3).

### **Публикации**

По результатам исследования опубликована 21 работ, в том числе 11 полнотекстовых статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета или Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; из них 8 статей опубликовано по результатам исследования в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science и Scopus, 3 иные публикации (2 в изданиях, индексируемых в международных базах, и 1 в издании, включенном в Перечень ВАК при Минобрнауки России), 10 публикаций в сборниках материалов международных (1 публикация) и всероссийских (9 публикаций) научных конференций.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа состоит из оглавления, введения, 4 глав, включающих обзор литературы, материал и методы, результаты собственных исследований и их обсуждение, а также выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, словаря терминов, списка источников литературы и приложения. Работа представлена на 247 страницах, иллюстрирована 81 рисунком и 76 таблицами. Библиографический указатель включает 258 литературных источников, в том числе 20 российских и 238 зарубежных изданий.

# ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ ПОЛОЖЕНИЕ ПРОБЛЕМЫ ОПУХОЛЕЙ И ОПУХОЛЕВИДНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ЯИЧНИКОВ В КЛИНИЧЕСКОЙ И НАУЧНОЙ ОБЛАСТЯХ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

## 1.1 Эпидемиология и классификация опухолей и опухолевидных образований яичников

Опухоли и опухолевидные образования яичников выявляются у женщин репродуктивного, перименопаузального и постменопаузального возрастов [105]. Тактика ведения пациентов зависит от гистологического типа ООВОЯ, наличия симптомов заболевания, возраста пациента, наличия репродуктивных планов, отягощенности семейного анамнеза и прочих факторов.

Вследствие особенностей эмбриогенеза придатков матки опухоли и опухолевидные образования яичников характеризуются гистологической гетерогенностью. Наиболее распространенными являются эпителиальные опухоли яичников, гистогенез которых продолжает изучаться, однако, общепринятой считается концепция полипотентности эпителия, которая проявляется его способностью к метоплазии и дифференцировке в эпителии трубного, эндометриоидного, цервикального, светлоклеточного или переходноклеточного типов [174]. К неэпителиальным опухолям относятся гранулезоклеточные, герминогенные опухоли, саркомы, лимфомы. Также встречаются опухоли вторичного генеза, которые представляют собой метастазы опухоли экстрагонадной локализации (желудочно-кишечный тракт (например, перстневидноклеточный рак желудка – опухоль Крукенберга, опухоль аппендикса низкой степени злокачественности, муцинозные опухоли панкреатобилиарной системы), молочная железа, шейка и тело матки) [47] (модифицированная классификация доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолей Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) представлена в Таблице 1.1).

Также в классификации ВОЗ от 2020 г. выделяют прочие ООВОЯ (коды классификации обозначают следующее: 0 — доброкачественная опухоль, 1 — неопределенный потенциал злокачественности или пограничная опухоль, 2 — карцинома *in situ*, или интраэпителиальная неоплазия III степени, 3 — злокачественная инвазивная опухоль):

1) прочие опухоли: аденома (0) и аденокарцинома (3) сети яичника, опухоль из клеток Вольфова протока (1), солидная псевдопапиллярная опухоль (1), мелкоклеточная карцинома (гиперкальциемический тип; 3), опухоль Вильмса (3);

2) опухолевидные образования яичников (0): фолликулярная киста, киста желтого тела, крупная солитарная лютеинизирующая фолликулярная киста, гиперреактивная лютеинизация, лютеома беременности, стромальная гиперплазия и гипертекоз, фиброматоз и массивный отек, гиперплазия клеток Лейдига.

Таблица 1.1 – Эпителиальные и неэпителиальные доброкачественные, пограничные и злокачественные опухоли и опухолевидные образования яичников (модифицированная классификация ВОЗ от 2020 г. [250])

Эпителиальные опухоли яичников	Неэпителиальные опухоли яичников
<b>Злокачественные опухоли яичников</b> (в том числе, <i>carcinoma in situ</i> и <i>низкодифференцированная интраэпителиальная неоплазия</i> )	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• серозная карцинома - низкой степени злокачественности (low grade); - высокой степени злокачественности (high grade);</li> <li>• муцинозная карцинома</li> <li>• эндометриоидная карцинома;</li> <li>• смешанная карцинома:</li> <li>• опухоль Бреннера;</li> <li>• недифференцированная карцинома</li> <li>• другие карциномы: карциносаркома, мезонефрально-подобная аденокарцинома</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• эндометриоидная стромальная саркома</li> <li>• аденосаркома (смешанная эпителиальная и мезенхимальная опухоль)</li> <li>• опухоли из стромы полового тяжа: - стромальные: фибросаркома, - из клеток полового тяжа: гранулезоклеточные опухоли (взрослый тип), стероидноклеточные, - смешанные: низкодифференцированные опухоли из клеток Сертоли-Лейдига</li> <li>• Герминогенные: незрелая тератома, дисгерминома, опухоль желточного мешка, эмбриональная карцинома, хориокарцинома, смешанная герминогенная опухоль</li> <li>• монодермальные и опухоли из дермоидных кист: струма яичника, тератомы с признаками злокачественной трансформации</li> </ul>
<b>Пограничные опухоли яичников</b> (в т.ч. с <i>неопределенным потенциалом</i> )	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Серозная пограничная опухоль, микропапиллярный вариант.</li> <li>• Муцинозная пограничная опухоль</li> <li>• Серозно-муцинозная пограничная опухоль</li> <li>• Эндометриоидная пограничная опухоль</li> <li>• Пограничная опухоль Бреннера</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• опухоли из стромы полового тяжа: - из клеток полового тяжа: гранулезоклеточные (ювенильный тип), опухоли из клеток Сертоли, опухоль стромы полового тяжа с кольцевидными трубочками, - смешанные: умеренно дифференцированные и ретиформные опухоли из клеток Сертоли-Лейдига, гинандробластома,</li> <li>• монодермальные тератомы и опухоли из дермоидных кист: карциноид,</li> <li>• герминогенноклеточные и опухоли стромы полового тяжа: гонадобластома, смешанные опухоли.</li> </ul>
<b>Доброкачественные опухоли</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Серозные: цистаденома, аденофиброма, поверхностная папиллома.</li> <li>• Муцинозные: цистаденома, аденофиброма</li> <li>• Серозномуцинозные: цистаденома, аденофиброма</li> <li>• Эндометриоидные кисты и аденофибромы</li> <li>• Опухоль Бреннера</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Лейомиома</li> <li>• Опухоли стромы полового тяжа: - стромальные: фиброма и текома, склерозирующие, микроцистные и перстневидноклеточные стромальные опухоли, опухоли из клеток Лейдига, стероидноклеточные, - смешанные: высокодифференцированные опухоли из клеток Сертоли-Лейдига</li> <li>• Герминогенные: зрелая тератома</li> <li>• Монодермальные тератомы и опухоли из дермоидных кист: струма яичника</li> </ul>

Эпителиальные опухоли могут иметь кистозное или солидное (клеточная строма представлена преимущественно фибробластами) строение. Пограничные новообразования яичников по клиническому течению и микроскопическому строению характеризуются одновременно признаками злокачественных (более выраженная, чем у доброкачественных опухолей, пролиферативная активность, атипия ядер клеток, имплантационное метастазирование) и доброкачественных (более благоприятное клиническое течение) опухолей [174]. Далее будут рассмотрены вопросы диагностики серозных карцином, пограничных опухолей и цистаденом.

### **Доброкачественные опухоли и опухолевидные образования яичников**

Для доброкачественных опухолей яичников характерно одностороннее расположение, однокамерное строение [22], [174], [66]. На основании преобладающего гистологического компонента доброкачественные эпителиальные опухоли подразделяются на серозные цистаденомы (кистозные опухоли с минимальным процентом стромы), цистаденофибромы (кистозное образование с преобладанием стромы, очагами отека и гиалинизацией), серозная аденофиброма (стромальная опухоль с железами) и поверхностная папиллома (по строению похожа на аденофиброму, на поверхности опухоли есть сосочковые разрастания) [22], [174], [215]. Чаще доброкачественные опухоли выявляются ближе к 40-летнему возрасту [22]. Их течение может быть бессимптомно, проявления заболевания могут быть ограничены неспецифическим болевым синдромом различной степени выраженности, а также вследствие сдавления соседних органов симптомами заболеваний мочевыводящих путей или желудочно-кишечного тракта [22]. Доброкачественные опухоли характеризуются благоприятным прогнозом после хирургического лечения (вылущивание кисты или резекция яичника, аднексэктомия) [22].

Эндометриоидные кисты, цистаденомы и другие доброкачественные образования яичников могут являться «предшественниками» злокачественных эпителиальных опухолей I типа (эндометриоидный, светлоклеточный, муцинозный РЯ, пограничные опухоли и РЯ низкой степени злокачественности) [47].

### **Пограничные опухоли яичников**

Пограничные опухоли яичников (ПОЯ) – эпителиальные новообразования яичников, представленные различными гистотипами (серозные (53,3% [145], более благоприятный прогноз [47]), муцинозные, смешанные, светлоклеточные опухоли, опухоли Бреннера) [112], и характеризующиеся признаками злокачественных и доброкачественных опухолей [145]. В 1970е годы ПОЯ были выделены ВОЗ [117] и FIGO [52] в отдельную группу опухолей яичников. Повышенная митотическая активность клеток, атипия ядер наблюдаются на фоне отсутствия

инфильтративного деструктивного роста и стромальной инвазии [27]. Длительное время изучалось прогностическое значение таких гистопатологических признаков как наличие микроинвазии и перитонеальных, в том числе инвазивных имплантов, - если неблагоприятное влияние первого фактора продолжает исследоваться [222], то изучение рисков, ассоциированных с выявлением второго фактора, привело к пересмотру в 2014 г. ВОЗ классификации опухолей яичников [237] и отнесению опухолей с признаками инвазии к РЯ низкой степени злокачественности (РЯ НСЗ, low grade) [145], [237]. В структуре всех серозных опухолей яичников ПОЯ составляют 10-15% [22], [47]. Около трети ПОЯ выявляется у женщин моложе 40 лет [87], [178]. Примерно в 75% случаев ПОЯ выявляются на I стадии [146], [47]. Пятилетняя заболеваемость при I-II стадиях заболевания достигает 98%, при III-IV стадиях – 82-90%. На основании вышеперечисленного ПОЯ относят к особенной категории новообразований с более благоприятным прогнозом, чем при злокачественных процессах, однако, с необходимостью придерживаться онкологических принципов в отличие от лечения доброкачественных заболеваний яичников, в том числе выполнением всех этапов хирургического стадирования [7]. Необходимость данного баланса особенно важна у пациентов репродуктивного возраста, которые чаще всего заинтересованы в фертильность-сберегающих объемах лечения для сохранения возможности последующего деторождения. По данным систематического обзора A. du Bois и соавт., 37% рецидивов заболевания регистрируется в течение первых двух лет после лечения, 31% - в период 2-5 лет наблюдения, 32% - по истечении 5 лет, в том числе 10% приходится на рецидив ПОЯ через 10 лет [41]. Более благоприятный по сравнению с инвазивным РЯ онкологический прогноз ассоциирован с возможностью более «консервативного» ведения и выполнением повторных оперативных вмешательств в органосберегающем объеме даже при наступлении рецидива заболевания [47], [145]. Однако данные опции рассматриваются консилиумом специалистов с учетом всех клинико-anamnestических и прогностически значимых факторов, в том числе, стадии заболевания по FIGO, - частота рецидива ПОЯ при I стадии составляет 5%, при распространенных стадиях заболевания - 25% и более [87], [145]. Следует учитывать, у 20% пациентов при рецидиве заболевания выявляется инвазивный процесс [41], в связи с чем продолжают исследования, посвященные изучению молекулярных особенностей ПОЯ, их сходства с РЯ НСЗ, а также возможных механизмов их трансформации [22], [127], [178], [237]. Резюмируя все вышеперечисленное, исследование ПОЯ представляет перспективы для понимания этиопатогенеза данных опухолей, а также для повышения точности их диагностики и усовершенствования ведения пациентов в гинекологической и онкологической практике.

### Злокачественные опухоли яичников

В 2019 г. абсолютное число впервые в жизни установленных диагнозов «Злокачественное новообразование яичника» (код по классификации МКБ 10-го пересмотра: C56) составило 14 318 случаев («грубый» показатель: 18,06 на 100 000 женского населения, стандартизованный показатель: 11,02 на 100 000 женского населения, ошибка стандартизованного показателя – 0,1) [6] (Рисунок 1.2).

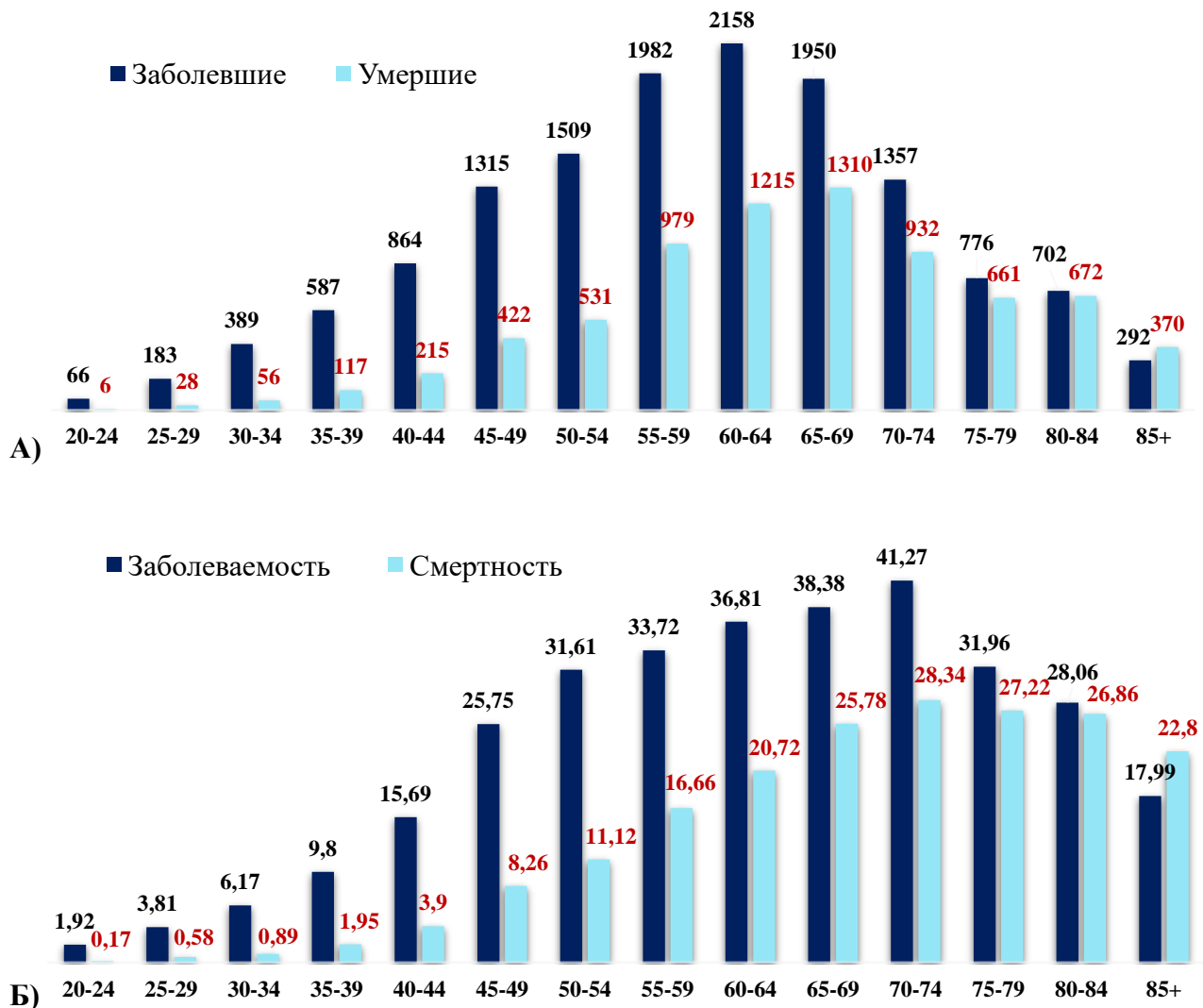


Рисунок 1.2 – А) Абсолютное число пациентов, заболевших или умерших от ЗНО яичника в каждой возрастной группе в РФ в 2019 г. Б) Заболеваемость и смертность различных возрастных групп женского населения от ЗНО яичника: "грубые" показатели на 100 тыс. женского населения РФ в 2019 г.

Средний возраст пациентов составил 59,4 лет. За 10 лет отмечена динамика прироста заболеваемости, которая достигла для «грубых» и стандартизованных показателей 9,71% и 4,38%, соответственно (среднегодовой темп прироста – 0,92% и 0,43%, соответственно; статистически значим) [6].

Смертность от ЗНО яичников в РФ занимает первое место в структуре смертности женского населения от ЗНО различных локализаций, опережая опухоли остальных органов

репродуктивной системы за исключением молочной железы [6], [216]. В 2019 г. летальность больных в течение года после установления диагноза достигла 19,4%, число умерших составило 7520 человек (средний возраст – 65,4 лет). В структуре смертности женского населения от ЗНО различных локализаций ЗНО яичников составляют 5,5%, опережая ЗНО тела матки (5,0%), шейки матки (4,7%). Данный показатель достигает 4,4% среди женщин в возрасте до 30 лет, уступая в данной возрастной группе показателю смертности от ЗНО шейки матки (8,0%). Среди причин смертности женщин в возрасте 30-39 лет ЗНО яичников не входят в перечень основных ЗНО, однако, в 40 - 49 лет и 50 - 59 лет смертность от ЗНО яичников достигает 8,0%. «Грубый» и стандартизованный показатели смертности от ЗНО яичника в 2019 году составили 9,56 и 4,80 на 100 000 женского населения, - отмечается положительная динамика в виде отрицательного прироста (- 6,54% и- 15,59%, среднегодовые темпы прироста составили – 0,68% и – 1,71%; статистически значимые различия) [6].

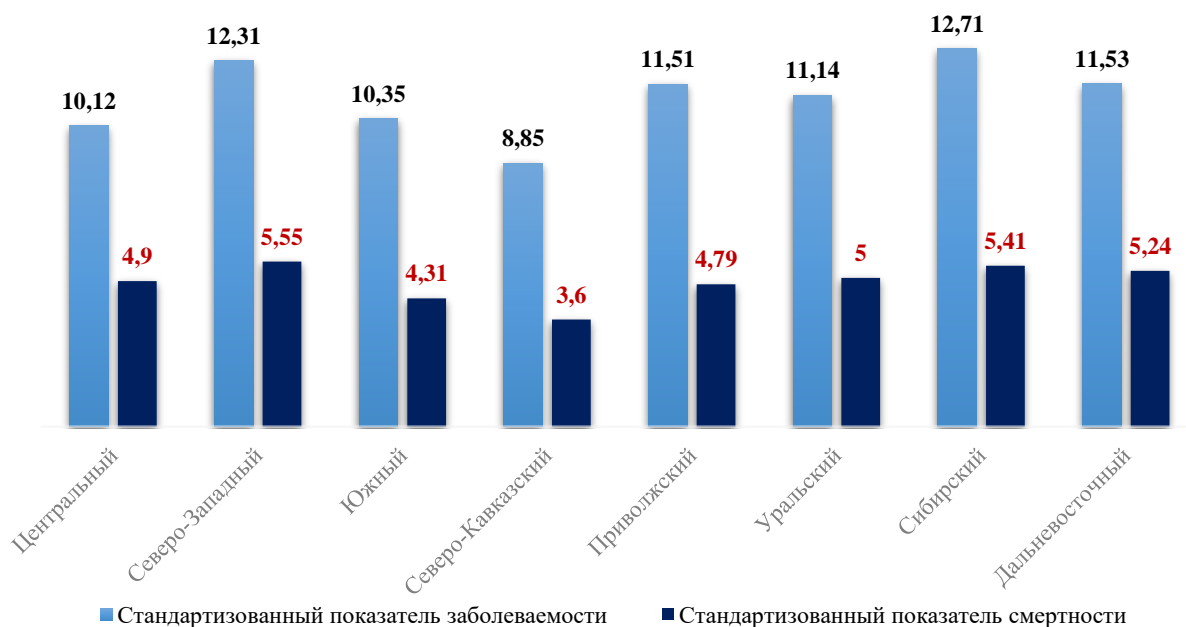


Рисунок 1.3 - Стандартизованные показатели заболеваемости и смертности от ЗНО яичника женского населения территорий Российской Федерации в 2019 г.

Эпителиальные опухоли составляют до 90% от всех ЗНО яичников. Приблизительно 10% ЗНО яичников приходится на герминогенные опухоли (95% составляют зрелые тератомы [220]), саркому и опухоли стромы полового тяжа и другие редко встречающиеся опухоли [172]. В свою очередь РЯ является гетерогенным заболеванием, представленным опухолями с различными морфологическими, гистологическими, молекулярными особенностями (Таблица 1.2) [17]: группу эпителиальных ЗНО яичников составляют серозный (68-71%), светлоклеточный (12-13%), эндометриоидный (9-11%), муцинозный (3%) гистотипы, злокачественные опухоли Бреннера (1%) и смешанные опухоли (6%) [15], [247].

Таблица 1.2 - Подтипы эпителиальных ЗНО яичников: гистологические и молекулярные признаки, характерные генетические мутации (по S. Lheureux с изменениями [131])

Характеристика	Серозный РЯ ВСЗ	Серозный РЯ НСЗ	
Частота подтипа	70%	10%	
Гистологические признаки	Сосочковый и солидный рост; крупные мононуклеарные клетки; плеоморфные ядра с выраженными ядрышками и митотической активностью.	Мелкие сосочки с клетками однородных ядер и различным количеством гиалинизированной стромы; псаммомные тельца.	
Молекулярные aberrации	повышение CNA TP53 BRCA1/2 CDK12 HRD	снижение CNA активация MAPK KRAS, BRAF, NRAS HER2	
Чувствительность к препаратам платины	Чувствителен	Относительно резистентен	
Наличие рецепторов фолатов	Да	Нет	
Наличие рецепторов к гормонам	30% ПР 80% ЭР	57% ПР 87% ЭР	
Применение гормональной терапии	Нет	Да	
Микросателлитная нестабильность	Нет	Нет	
Подтипы	Светлоклеточный	Эндометриоидный	Муцинозный
Частота подтипа	5%	10%	<3%
Гистологические признаки	Смесь канальцев, твердых участков и сложных сосочков; клетки с выступающими ядрышками и прозрачной цитоплазмой, заполненной гликогеном.	Кистозный или преимущественно солидный.	Гетерогенный; часто состоит из доброкачественных, пограничных, неинвазивных и инвазивных компонентов.
Молекулярные aberrации	активация PI3K/AKT, активация RTK/Ras ARID1A PI3KCA KRAS, PTEN TP53	активация Wnt/ $\beta$ -catenin PTEN CTNNB1 PPP2R1 $\alpha$ PI3KCA ARID1A KRAS TP53	амплификация HER2 KRAS
Чувствительность к препаратам платины	Относительно резистентен	Чувствителен	Относительно резистентен
Наличие рецепторов фолатов	Нет	Да	Нет
Наличие рецепторов к гормонам	8% ПР 19% ЭР	67% ПР 76% ЭР	16% ПР 20% ЭР
Применение гормональной терапии	Нет	Да	Нет
Микросателлитная нестабильность	Да	Да	Нет

Примечание: ПР – рецепторы прогестерона, ЭР – рецепторы эстрогена. AKT: AKT serine/threonine kinase 1; ARID1A: AT-Rich Interaction Domain 1A; CTNNB1: catenin beta 1; MMR: mismatch repair; PI3K(CA): phosphoinositide-3-kinase (catalytic,  $\alpha$  polypeptide); PPP2R1 $\alpha$ : protein phosphatase 2, subunit A,  $\alpha$  isoform; PTEN: phosphatase and tensin homologue (ген-супрессор); RTK: receptor tyrosine kinase; Wnt: wingless-related integration site.

Дуалистическая модель канцерогенеза РЯ, предложенная в 2014 г. Kurman R.J. и соавт., основана на выявлении мутаций генов (протоонкоген KRAS (Kirsten rat sarcoma viral oncogene homologue), BRAF (ген, кодирующий белок B-Raf: carcinoma B-Raf proto-oncogene), NRAS (neuroblastoma RAS viral (V-ras) oncogene homologue), HER2 (human epidermal growth factor receptor 2), BRCA1/2 (гены-супрессоры опухолевого роста, breast cancer 1/2 gene), HRD (homologous recombination deficiency), CDK12 (cyclin dependent kinase 12), CNA (copy number alteration), и другие), в том числе генов в сигнальном пути митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК, mitogen-activated protein kinase) при РЯ НСЗ и мутаций TP53 (tumour protein p53) при РЯ ВСЗ [80], что показало гетерогенность РЯ внутри серозного гистотипа и послужило поводом субклассификации, а впоследствии разграничило подход к ведению пациентов с данными злокачественными опухолями (Таблица 1.3) [127].

Таблица 1.3 - Эпителиальные и неэпителиальные злокачественные опухоли яичников [209]

Происхождение клеток	Гистологический тип	Характеристика	Биомаркеры
Строма полового тяжа	Фиброма Текома Клетки Сертоли–Лейдига Гранулезоклеточные опухоли	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤Развивается из комбинации гранулезных клеток (чаще всего) тека-клеток и стромальных лютеиновых клеток яичников</li> <li>➤Медленно растущая опухоль с низким злокачественным потенциалом, часто выявляется на ранних стадиях и имеет относительно благоприятный прогноз</li> <li>➤Обычно диагностируется у взрослых женщин (около 50 лет), но может встречаться и у детей (около 8 лет)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ингибин В</li> <li>• Эстрадиол (Е2)</li> <li>• Антимюллеров гормон (АМГ)</li> </ul>
Поверхностный эпителий	<b>Тип I</b> Муцинозные Эндометриоидные Светлоклеточные Серозные высокодифференцированные ( <i>low grade</i> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤Постепенно прогрессирует от потенциально злокачественной опухоли до карциномы</li> <li>➤Чаще развивается у женщин в возрасте около 45 лет</li> <li>➤С большей вероятностью диагностируется на ранней стадии</li> <li>➤Имеет стабильный геном, характеризуется медленным ростом</li> <li>➤Имеет относительно благоприятный прогноз, но, как правило резистентна к химиотерапии препаратами платины</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Раково-эмбриональный антиген (РЭА)</li> <li>• Раковый антиген 125 (СА 125)</li> <li>• Белок 4 эпидидимиса человека (HE4)</li> <li>• Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ)</li> <li>• Трансферрин</li> <li>• Бета-2-микроглобулин;</li> <li>• Аполипопротеин А1</li> </ul>
	<b>Тип II</b> Серозные низкодифференцированные ( <i>high grade</i> ) Карциносаркома Недифференцированный Переходный	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤Развивается быстро без явного предшествующего новообразования из-за выраженной геномной нестабильности .</li> <li>➤Чаще развивается у женщин в возрасте около 65 лет.</li> <li>➤Как правило диагностируется на поздних стадиях и имеет неблагоприятный прогноз</li> <li>➤Обычно хорошо поддается первичному лечению препаратами платины, но при рецидиве имеет высокую резистентность к платине</li> </ul>	
Половые клетки	Дисгерминома Желточный мешок Хориокарцинома Тератома	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤Развивается в быстро прогрессирующие массивные опухоли из первичных гамет.</li> <li>➤Встречается в основном у молодых женщин или подростков младше 20 лет.</li> <li>➤Относительно благоприятный прогноз благодаря высокой чувствительности к химиотерапевтическому лечению</li> <li>➤Возможно выполнение лечения с сохранением фертильности</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Альфа-фетопротеин (АФП)</li> <li>• Бета-субъединица хорионического гонадотропина человека ( b-ХГЧ)</li> <li>• Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)</li> <li>• ХГЧ</li> <li>• Плацентарная щелочная фосфатаза</li> <li>• Дегидроэпандростерон</li> </ul>

Тактика ведения пациентов репродуктивного возраста во многом зависит от стадии заболевания и принадлежности опухоли к одному из прогностически разных типов (ПОЯ, серозные злокачественные новообразования high grade и low grade), в связи с чем дифференциальная диагностика данных образований выходит на первый план при планировании органосберегающего или органосохраняющего объема хирургического лечения.

Рак яичников низкой степени злокачественности – эпителиальная высокодифференцированная (low grade) злокачественная опухоль яичника. В структуре всех серозных опухолей яичников на РЯ НСЗ приходится 3-10% и до 8% в структуре всех ЗНО яичников [22], [47], [101]. Данные опухоли встречаются у женщин более молодого возраста (47-54 года), чем пациенты, которых выявляется РЯ ВСЗ [25], [47], и манифестируют практически всегда метастатически или синхронно с ПОЯ [127]. В отличие от РЯ ВСЗ при опухолях данного типа не наблюдается мутаций TP53, для них характерны мутации генов KRAS или BRAF, а также активация сигнального пути митоген-активируемой протеинкиназы (Ras-Raf-MEK-ERK) [47]. Несмотря на низкую чувствительностью к ХТ (4,9% и 2,1%, при платиновичувствительности и платинорезистентности, соответственно; ответ на НАХТ при РЯ НСЗ и РЯ ВСЗ - 4% и 80%, соответственно [47]) и выявление преимущественно на распространенных стадиях течение и прогноз при РЯ НСЗ считаются относительно благоприятными [47], [101], [127] (медиана ОВ, по данным Grabowski J. P. и соавт., может достигать 82 мес. [109]). Ключевое значение в лечении пациентов с РЯ НСЗ отведено хирургическому методу [47].

Рак яичников высокой степени злокачественности – эпителиальная низкодифференцированная (high grade) злокачественная опухоль. Одним из наиболее исследованных механизмов канцерогенеза РЯ ВСЗ является его эволюционное происхождение из трубного эпителия [47], [127], [131], [250], несмотря на то, что при 20-30% РЯ ВСЗ не обнаруживаются каких-либо предраковых изменений в маточных трубах [237]. Серозная интраэпителиальная неоплазия эпителия фаллопиевых труб ассоциирована с мутацией в гене p53, что характеризует клональную связь между РЯ ВСЗ и раком маточной трубы [127], [131]. Это отображено в обновленной классификации женских репродуктивных органов 2020 г. в виде появления термина «tubo-ovarian high grade serous carcinoma» (тубоовариальный серозный рак высокой степени злокачественности) [250] и включено в патоморфологические руководства (Международное общество гинекологических патологов [103], Королевский колледж патологов [252]). РЯ ВСЗ с карциносаркомами составляет группу опухолей II типа (Таблица 1.3) [209].

## 1.2 Факторы риска возникновения опухолей и опухолевидных образований яичников

Как было отмечено выше, этиология и патогенез ООВОЯ существенно различаются (персистенция желтого тела или фолликула при функциональных и геморрагических кистах, нарушение дифференцировки половых клеток при тератомах и других герминогенных опухолях, эндометриоз при эндометриоидных кистах и эндометриоидных ПОЯ, трансформация серозных цистаденом в ПОЯ при наличии мутаций в генах BRAF и KRAS, и другие механизмы), и единых факторов не установлено, однако, в качестве фоновых и предрасполагающих процессов изучаются воспаление и аутоиммунный ответ [7], [16], [17], [40].

В большинстве случаев заболевание является спорадическим, но в 15-20% развитие заболевания ассоциировано с наследственной мутацией [47], [151], [172], [178]. Мутации в генах BRCA1 или BRCA2 встречаются у 14-20% пациентов с ЗНО яичников, что превышает общепопуляционный показатель 1%, и сопровождаются повышением риска развития заболевания в течение жизни на 20-60% и 10-27%, соответственно [42], [47]. Примерно 5-10% наследственных ЗНО яичников ассоциированы с мутациями в генах TP53, STK11, PTEN, ATM и CHEK2 [102]. Для пациентов с наследственной формой характерна более ранняя манифестация заболевания (в среднем на 10 лет), есть указания на отягощенный личный или семейный анамнез по ряду предрасполагающих онкологических заболеваний (Таблица 1.4).

Таблица 1.4 – Риски наследственного РЯ в соответствии с отягощенным онкологическим анамнезом [16], [170]

Риск	Анамнез
<b>высокий</b>	2 случая РЯ I-Пл., РМЖ <sup>1</sup> I-Пл. < 45 лет, тройной негативный РМЖ I-Пл. < 60 лет, двусторонний РМЖ I-Пл., 1 случай РЯ I-Пл. + 1 РМЖ I-Пл. < 50 л., синхронный РЯ+РМЖ у одной из родственниц I-Пл., 1 случай РЯ I-Пл. + 2 случая РМЖ I-Пл. < 60 л., 3 случая КРР I-Пл., 1 случай РЯ I-Пл + 1 случай РМЖ I-Пл., родственники 2КРР I-Пл + 1 случай РЖ/ 1 случай РЯ/1 случай РЭ/1 случай РМВС/1РТК I-Пл (1 < 50 лет), 2 односторонн. РМЖ II-Пл. + 1 случай РМЖ I-Пл. > 50 л., 3 случая РПЖ/РМЖ I-Пл. по одной линии, РМЖ у муж.
<b>умеренный</b>	1 случай РМЖ I-Пл., 2 случая односторонн. РМЖ II-Пл. + 1 случай РМЖ I-Пл.>50л., 1 случай РПЖ I-Пл.
<b>общепопуляционный</b>	нет данных или односторонний РМЖ у 1 родственницы II ст. после 50 лет

Примечание: <sup>1</sup> КРР-колоректальный рак, РМЖ – рак молочной железы, РТК – рак тонкой кишки, РЭ – рак эндометрия, РМВС – рак органов мочевыводящей системы; I л. – 1ая линия родства (родители и дети, братья и сестры), II л. - 2ая линия родства (тети и дяди, бабушки и дедушки, кузены и племянники, внуки) [100]

К факторам риска, повышающим вероятность ЗНО яичников, относятся: наследственный рак молочной железы, обусловленный мутацией в генах BRCA1/BRCA2, синдром Линча II типа (колоректальный рак, рак эндометрия, РЯ), бесплодие и отсутствие родов в анамнезе,

эндометриоз, ожирение, старение [151], [172], [178]. Согласно рекомендациям NCCN (National Comprehensive Cancer Network, США) [170], наличие перечисленных факторов риска наследственного синдрома рака молочной железы и яичников показанием к исследованию мультигенных панелей методом секвенирования, включающих BRCA1, BRCA2 и другие гены репарации дезоксирибонуклеиновой кислоты.

Профилактическая сальпингэктомия является фактором, снижающим риск развития серозных ЗНО яичников [151], [169]. Патогенетическое обоснование редукции риска заключается в удалении дистальных отделов фаллопиевых труб как потенциального места возникновения начальных изменений (серозная трубная интраэпителиальная неоплазия), ассоциированных с РЯ ВСЗ [127], [131], а также в удалении источника эндосальпингиоза (эктопия реснитчатого эпителия маточной трубы), сопутствующего ПОЯ [7]. Данная операция может быть выполнена в процессе кесарева сечения, а также в ходе хирургических вмешательств по поводу внематочной беременности и экстрагенитальных патологий. Помимо упомянутой операции к факторам снижения риска заболевания относятся применение оральных контрацептивов, наличие родов в анамнезе, а также применение нестероидных противовоспалительных средств [172], [178].

### **1.3 Возможности и ограничения современных методов диагностики, мониторинга и прогнозирования исходов лечения пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников**

Благодаря достижениям последних 30 лет в области онкологии (внедрение скрининговых программ, внедрение инновационных подходов в хирургии, внедрение новых лекарственных средств, и др.) при многих ЗНО наблюдается повышение пятилетней выживаемости на 20% [104], [216]. Однако данная тенденция наименее заметна при опухолях яичников, - даже в высокоразвитых странах таких как США и Канада пятилетняя выживаемость при РЯ ВСЗ составляет всего лишь 47%, - для сравнения, аналогичный показатель при раке молочной железы достигает 85% [46], [199]. По данным Национального Института Рака США, в 2020 г. зарегистрировано 21 750 новых случаев заболевания (в РФ за 2019 г. – 14 206 новых случаев [6]) и 13 940 смертей (в РФ за 2019 г. – 7 520 смертей [6]) [216], [244]. Это связано с отсутствием эффективных мер, направленных на выявление РЯ на ранних стадиях, - в 75% случаев диагноз устанавливается на III-IV стадиях заболевания [193].

По данным крупного популяционного исследования первой декады XXI века, включившего 20 073 больных РЯ из пяти стран, выживаемость через год после установки диагноза составила 69% в Великобритании, 72% в Дании и по 74-75% в Канаде, Норвегии и Австралии [221]. У 74% заболевших жителей Дании была установлена III-IV стадии заболевания, в остальных странах

данные стадии были выявлены в 60-70% случаев. Несмотря на высокий уровень развития перечисленных стран интернациональные различия в интересующих эпидемиологических показателях во многом обусловлены корректностью ведения регистров, особенностями страховой медицины, а также преобладанием прогрессирующих стадий заболевания при первичном обращении пациентов и преобладанием у них более агрессивного биологического типа опухоли.

По данным интерактивной платформы GLOBOCAN и Центра контроля и профилактики заболеваний США, РЯ занимает седьмое место в структуре заболеваемости ЗНО в мире, восьмое место – в структуре смертей, обусловленных онкологическими заболеваниями у женщин, и второе место – в структуре смертей, обусловленных ЗНО репродуктивных органов, уступая первенство раку шейки матки [46], [128]. Смертность от ЗНО яичников в США и Российской Федерации занимает первое место, опережая опухоли остальных органов репродуктивной системы [6], [216]. По данным Национального Института Рака США, в 2020 г. зарегистрировано 21 750 новых случаев заболевания и 13 940 смертей [216], [244]. Возраст 80-90% заболевших составляет 20-65 лет [73]. По мнению United States Preventive Services Task Force, скрининг РЯ считается нецелесообразным в связи с высоким риском проведения необоснованных оперативных вмешательств у бессимптомных женщин [211].

#### Маркеры крови

В перечень стандартных предоперационных методов диагностики входит определение онкомаркеров крови (CA 125 (cancer antigen 125), HE4 (human epididymis protein 4) и других), а также расчет индексов ROMA (the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm) и RMI (the Risk of Malignancy Index), выполнение УЗИ органов малого таза, предпочтительно, трансвагинальным доступом [241].

Принципиальное клиническое значение в выявлении и дифференциальной диагностике ООВОЯ отведено иммунологическому исследованию, направленному на поиск маркеров заболевания. Согласно данным крупного исследования PLCO (the prostate, lung, colorectal and ovarian cancer), изучившего ценность определения CA 125 в крови для скрининга РЯ, CA 125 является наилучшим доступным белковым биомаркером, идентифицированным на сегодняшний день. Метод определения данного маркера остается одним из ориентировочных лабораторных показателей, на основании изменений которого осуществляется выбор лечебно-диагностической тактики и принятие клинически значимых решений при выявлении ООВОЯ, однако, в целом имеет относительно низкую специфичность и не обладает достаточной чувствительностью при ранних стадиях ЗНО яичников [84]. Данные аргументированные ограничения обуславливают его неприменимость в стратегии скрининговых программ [84], [126].

Изменение СА 125 подвержено влиянию ряда конфаундеров (повышение ИМТ [189], воспалительные и пролиферативные (например, миома матки, эндометриоз) процессы, этническая принадлежность, беременность), что представляет дополнительную сложность в интерпретации лабораторных данных и ограничивает применение метода [126]. В связи с изложенным были проведены многочисленные исследования, посвященные изучению возможности повышения диагностической точности при исследовании данного маркера, например, посредством исследования дополнительных маркеров и создания комплексных индексов. Оценка RMI с пороговым значением 200 позволяет ранжировать опухоли и опухолевидные образования по степени злокачественности (низкий и высокий риск) с чувствительностью 78% и специфичностью 87% [95]. Ограничением применения RMI является его существенная зависимость от повышения маркера СА 125, низкая информативность результатов, полученных при обследовании пациентов с ПОЯ [84].

Исследование раково-эмбрионального антигена (РЭА) и / или антигена СА 19-9 могут быть полезны для дифференциации первичных опухолей яичников от метастатических опухолей желудочно-кишечного тракта или поджелудочной железы [84]. Для дифференциации рака яичников и колоректального рака используется соотношение СА 125 / РЭА, - на локализацию процесса в яичниках указывает превышение значения «25» [47]. Данные по ряду остальных маркеров приведены в Таблице 1.5.

Таблица 1.5 - Изменения онкомаркеров при различных эпителиальных и неэпителиальных опухолях яичников

Онкомаркер	Заболевание	Показания
ЛДГ (лактатдегидрогеназа)	дисгерминома	пациенты до 40 лет (высокий риск герминогенных опухолей)
АФП (альфа-фетопротеин)	опухоли желточного мешка (эндодермального синуса), эмбриональная карцинома, полиэмбриома, незрелая тератома	
β-ХГЧ (бета-субъединица хорионического гонадотропина)	хориокарцинома, эмбриональная карцинома, полиэмбриома, незрелая тератома, некоторые дисгерминомы	
ингибин В	гранулезоклеточная опухоль	при подозрении на опухоли стромы полового тяжа (совместно с АМГ)
РЭА (раково-эмбриональный антиген)	КРР, муцинозные опухоли яичников (чтобы дифференцировать, оценить соотношение: СА 125 / РЭА > 25 указывает на овариальный генез опухоли)	при подозрении на муцинозную карциному
СА 19-9	муцинозные опухоли яичников	

R. G. Moore и соавт. было проведено исследование чувствительности и специфичности определения СА 125, HE4, СА 72-4, активина, ингибина, остеопонтина и эпидермального

фактора роста (EGFR) в сыворотке крови и моче у 233 пациентов с образованиями яичников (доброкачественные опухоли и состояния, – серозная и муцинозная цистаденомы, эндометриоидная киста, зрелая тератома, фиброма, а также паратубарная киста, гиперплазия эндометрия, воспалительное заболевание органов малого таза и др., - n=166; злокачественные инвазивные эпителиальные опухоли, – серозная, муцинозная, эндометриоидная, светлоклеточная, мезодермальная, смешанная, нейроэндокринная, и др., - n=67), в 2007 г. авторами были опубликованы данные о повышении дифференциально диагностической точности исследования изменений маркера СА 125 крови при образованиях яичников при помощи нового разработанного индекса, который включал совместную оценку СА 125 и HE4 (чувствительность 76,4%, специфичность 95%). По данным мета-анализов, индекс ROMA (определение СА 125 и HE4) способствует потенциальному повышению дифференциации доброкачественных образований яичников, в том числе на фоне воспалительных процессов и наличия эндометриоза, однако, значимость различий по сравнению с определением только СА 125 не является достаточной [61], [84], [198]. Однако определение СА 125 даже при расчете в составе комплексных шкал (Таблица 1.6) не обладает достаточными показателями чувствительности и специфичности при ранних стадиях рака яичников [1].

Таблица 1.6 - Клинические данные применения диагностических опций в изолированном и комбинированном режимах у женщин репродуктивного возраста.

Показатель	Шкала ОС	MIA2G	СА 125 + Шкала ОС	MIA2G + Шкала ОС
<b>Чувствительность, %</b>	71.4	<b>85.7</b>	42.9	<b>64.3</b>
<b>Специфичность</b>	80.9	72.3	<b>97.9</b>	93.6
<b>ПЦ «+»</b>	52.6	48.0	<b>85.7</b>	<b>75.0</b>
<b>ПЦ «-»</b>	90.5	<b>94.4</b>	85.2	89.8

Примечание: ПЦ (+) - прогностическая ценность положительного результата, ПЦ (-) - прогностическая ценность отрицательного результата, ОС (оценка симптомов) – клиническая шкала оценки симптомов (ES-clinical scale for evaluating symptoms), MIA2G (second-generation multivariate index assay) – многовариантный индекс второго поколения, - диагностическая панель, включающая СА 125, HE4, фолликулостимулирующий гормон, трансферрин, апополипротеин 1 [1], [60].

По данным нескольких исследований, одним из перспективных биомаркеров является апополипротеин А1 – белок липопротеинов высокой плотности и хиломикронов, состоящий из 243 аминокислот. Несмотря на низкую специфичность (определяется повышенная концентрация у пациентов с различными ЗНО), данный белок может использоваться в составе многомерной диагностической панели, в состав которой могут быть включены также СА 125 и HE4 (например, одобренная FDA панель MIA (multivariate index assay), Таблица 1.6 [149].

Применение маркеров необходимо не только для первичной и дифференциальной диагностики ООВОЯ, но и для мониторинга эффективности проводимого лечения.

Прогностические неблагоприятными при серозном раке яичников high grade считаются следующие показатели: III-IV стадии заболевания по классификации FIGO [164], наличие остаточной опухоли после проведенного оперативного лечения [85], [88], [170], [181], отсутствие мутации в генах репарации ДНК, осуществляемой при помощи гомологичной рекомбинации (homologous recombination, HR) [162], [119] снижение альбумина ([альбумин]  $\leq 2,5$  г/дл) [210], повышение СА 125 ( $>2000$  Ед/мл) [210]. Примерно у 50% пациентов с РЯ ВСЗ и мутациями в генах репарации ДНК наблюдается положительный эффект от назначения таргетной терапии (ингибиторы поли-АДФ-рибозилирования (PARP: poly (ADP-ribose) polymerase): олапариб, нирапариб, рукапариб) и препаратов платины [45].

В двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании III фазы GOG-0218 была проанализирована предиктивная значимость семи биомаркеров плазмы крови (интерлейкин 6 (ИЛ-6) и его рецептор, ангиопоэтин 2, остеопонтин, фактор стромального происхождения-1, гомолог D сосудистого эндотелиального фактора роста и гликопротеин 130) в прогнозировании общей выживаемости (ОВ) и выживаемости без прогрессирования (ВБП) у пациентов с III-IV стадиями эпителиального РЯ после первичной циторедуктивной операции, получавших в качестве поддерживающей терапии бевацизумаб [18]. Выживаемость без прогрессирования рассчитана как срок от момента начала лечения до даты возникновения прогрессирования или рецидива заболевания. Каждый из фактор был рассмотрен с позиций возможных различий таких конфаундеров как возраст, стадия заболевания, объем выполненной циторедукции. В результате изучения ангиома плазмы были получены следующие результаты: ИЛ-6 обладает предиктивной значимостью при анализе изменений ВБП, ассоциированных с приемом бевацизумаба. Его повышение при приеме бевацизумаба сопровождается увеличением ВБП до 14.2 мес. по сравнению с 8.7 мес. при приеме плацебо (КР=0,63 (95% ДИ = 0.51, 0.79), p-value = 0.007) и ОВ до 39.6 мес. по сравнению с 33.1 мес. при приеме плацебо (КР = 0.78, 95% ДИ = 0.62-0.98). Для ИЛ-6 и остеопонтина была установлена отрицательная прогностическая значимость при анализе изменения ВБП и ОВ. Таким образом, одним из результатов данного крупного исследования является прогностическая значимость повышения ИЛ-6 в плазме крови перед приемом бевацизумаба у ряда пациентов, имеющих более высокую вероятность достижения клинической эффективности от его применения в качестве поддерживающей терапии в дополнение к стандартной химиотерапии (карбоплатин + паклитаксел) при эпителиальном раке яичников.

#### Ультразвуковое исследование органов малого таза

В выявлении ООВОЯ ультразвуковое исследование является диагностическим методом первой линии [242]. Трансвагинальное УЗИ является информативным и безопасным методом первой линии диагностического этапа [75], [180], [224], однако, метод является высоко зависимым от навыка (компетентность, опыт) врача, выполняющего исследование [81]. При этом

важность данного диагностического этапа была продемонстрирована в проспективном рандомизированном контролируемом исследовании Valentin L. и соавт., - авторы показали, что точность УЗИ, выполненного экспертом (специалист III квалификационного уровня [84]), приводит к снижению частоты выполнения излишних диагностических обследований и ассоциировано с сокращением времени пребывания в стационаре пациентов с доброкачественными, пограничными и злокачественными образованиями яичников, а также опухолями экстраовариальной локализации [245].

Для повышения диагностической точности и объективности исследования международная группа по изучению опухолей яичников (IOTA, the International Ovarian Tumor Analysis) предложила несколько моделей и правил для описания доброкачественных, пограничных и злокачественных образований яичников с использованием характерных ультразвуковых признаков (эхографическая семиотика). ADNEX является одной из последних разработок группы IOTA и представляет собой мультипараметрическую алгоритмизированную прогностическую модель для оценки наличия ООВОЯ [174], [84]. Модель ADNEX использует три клинических и шесть ультразвуковых показателей и классифицирует опухоли на доброкачественные, пограничные, первичный РЯ I стадии и II–IV стадий и вторичный метастатический рак. Результаты оценки представлены в процентах от каждого подтипа и относительной величины риска. ADNEX широко используется не только в европейских странах-разработчиках, поскольку успешно прошла проспективную внешнюю валидацию.

При поддержке Американского Колледжа Радиологии в 2020 году международным междисциплинарным консенсусом экспертов (гинекологи, гинекологи-онкологи, рентгенологи) была предложена новая модель предоперационной оценки опухолей и опухолевидных образований придатков матки O-RADS (Ovarian-Adnexal Reporting and Data System), которая позволяет не только стратифицировать риски наличия злокачественного процесса, но и ранжировать пациентов на 6 клинических категорий (O-RADS 0-5), для каждой из которых предлагается дальнейшая лечебно-диагностическая тактика или наблюдение [167]. Система O-RADS является интегральным продуктом, объединившим диагностический подход, основанный на выявлении характерных группирующих эхографических признаков (принят преимущественно в Северной Америке), и модель ADNEX.

Система O-RADS является единственной моделью дифференциальной диагностики, которая основана на результатах визуального анализа изображений доброкачественных, пограничных и злокачественных ООВОЯ, описанных в соответствии с стандартизированной классификацией, и математического расчета рисков малигнизации (Рисунок 1.4, Приложение А). Для O-RADS предложены стандартизированные термины для описания ООВОЯ и для

прогнозирования того, является ли опухоль доброкачественной или злокачественной, а также для определения стадии ЗНО.



Рисунок 1.4 - Блок-схема шагов, рекомендуемых для различия доброкачественных и злокачественных опухолей, а также для направления пациентов на дополнительное обследование или соответствующее лечение. КТ - компьютерная томография; F/U, последующее наблюдение; IOTA ADNEX, Международная группа по анализу опухолей яичников, Оценка различных новообразований в придатках; MPT, магнитно-резонансная томография; O-RADS, система отчетности и данных о яичниках[84], [174]

При обнаружении одновременно нескольких ООВОЯ каждое из них следует отдельно охарактеризовать в соответствии с данными модели ADNEX и категориями O-RADS, при этом тактика ведения пациента должна быть основана на рекомендациях, соответствующих категории с наиболее высоким риском злокачественности [84], [174].

Расчета показателей модели ADNEX и классификация ООВОЯ в соответствии с категориями O-RADS в процессе выполнения УЗИ при ООВОЯ позволяет принять решение о целесообразности проведения дополнительных методов обследования, выбрать надлежащую консультативную, выжидательную или оперативную тактику ведения пациентов каждой из шести установленных групп риска. Учитывая обозначенные диагностические преимущества, необходимо дальнейшее изучение возможностей внедрения указанных разработок в практику.

#### Гистологическое исследование

Наиболее информативным и верифицирующим методом диагностики доброкачественных, пограничных и злокачественных ООВОЯ является морфологическое

исследование, точность которого достигает 90%, а при совместном анализе с определением иммуногистохимических (ИГХ)-маркеров может превышать 95% [118], [127], [173].

Пересмотр механизмов этиопатогенеза находит отображение в обновленных терминах и классификациях и диктует новые подходы в лечении пациентов с различными опухолями яичников. Согласно данным молекулярно-генетического анализа, гистологического и ИГХ-исследований, в обновленном в 2020 году пятом издании классификации женских репродуктивных органов ВОЗ представлены пять основных гистотипов РЯ, различных по биологическим механизмам развития и клиническим исходам (Таблицы 1.2, 1.3): серозные карциномы высокой степени злокачественности (high grade; приблизительно 70%), серозные карциномы низкой степени злокачественности (low grade; приблизительно 10%), эндометриоидные (приблизительно 10%), светлоклеточные (приблизительно 5%) и муцинозные (<3%) карциномы [127], [247] (Таблица 1.7).

Таблица 1.7 – Панель ИГХ-маркеров для дифференциальной диагностики серозных ЗНО яичников [22], [191]

Опухоль	ПОЯ	Аденокарцинома яичника низкой степени злокачественности (low grade)	Аденокарцинома яичника высокой степени злокачественности (high grade)
Маркер			
<b>РАХ-8</b>		позитивная реакция	
<b>WT-1</b>		ядерная позитивная реакция	
<b>p16</b>		мозаичная цитоплазматическая реакция	диффузная ядерно-цитоплазматическая реакция
<b>p53</b>		мозаичная слабая/умеренная реакция (wild type)	тотальная позитивная/тотальная негативная (mutant type)
<b>Ki-67</b>	низкий	низкий/умеренный	высокий

РАХ-8 отражает происхождение опухоли из производных парамезонефрального (Мюллеров) протока, WT-1 характерен для серозного гистотипа опухоли яичников, наличие мутации p53 характерно для РЯ ВСЗ [80], что позволяет дифференцировать его от РЯ НСЗ и ПОЯ [127]. Исследование основных перечисленных маркеров повышает точность дифференциальной диагностики основных пяти гистотипов РЯ до 90% [173]. В серозных опухолях яичников также могут экспрессироваться маркеры: CK7 (94%), BerEp4 (97%), CA 125 (79%), ER (82%), MOC31 (100%), MUC1 (82%), PgR (50%), PAX-2 (32%), Vimentin (79%) [127], [173].

#### 1.4 Возможности применения омиксных технологий в диагностике опухолей и опухолевидных образований яичников

В контексте постгеномных исследований в области системной биологии транскриптомика, протеомика и липидомика необходимы для понимания физиологических и патологических процессов [11]. Метод секвенирования позволяет с высокой точностью определять последовательность первичной структуры нуклеиновых кислот, в том числе проводить наиболее

полное профилирование биологических субстратов для изучения роли представленных транскриптов в механизмах патогенеза заболеваний [257]. Многопараметрические технологии метаболического профилирования в основном сосредоточены на масс-спектрометрии (МС, обычно с этапом хроматографического разделения) и спектроскопии ЯМР, потому что оба метода могут давать широкую структурную и конформационную информацию о многих метаболитах в результате одной аналитической процедуры [67], [246]. Метаболомика при помощи количественных методов изучает конечные продукты взаимодействия между генами, белками и другими веществами, что позволяет характеризовать динамические изменения при различных состояниях (прием медикаментов, старение) [10] и патологических процессах [115].

#### **1.4.1 Определение липидного профиля опухолевых тканей и биологических жидкостей при помощи метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией**

Масс-спектрометрия – это метод аналитической химии, позволяющий определять химический состав анализируемых образцов при помощи измерения соотношения массы ионов к их зарядам ( $m/z$ ) [150], [159]. Зарегистрированные прибором данные отображаются в виде масс-спектров относительной интенсивности сигнала потоков ионов, различающихся в зависимости от соотношений  $m/z$ , - полученные результаты позволяют идентифицировать состав вещества на основании сопоставления измеренных масс аналита с референсными [38]. Изобретение в 1968 г. метода ионизации электроспреем и его активное использование, начиная с 80х годов [150], а также применение в 1987 г. десорбционного метода матрично-активированной лазерной ионизации [159] позволили проводить анализ термолабильных молекул таких как белки, нуклеиновые кислоты, а также липидов. Усовершенствование метода масс-спектрометрии для обнаружения биомолекул и методов моделирования и статистической обработки данных позволило использовать их комбинацию в фундаментальных и трансляционных биомедицинских и онкологических исследованиях.

По мере накопления исследований в сфере постгеномных технологий в течение последних двух десятилетий появился новый раздел биомедицины, изучающей липиды и молекулы, с которыми они взаимодействуют, - липидомика. Липиды присутствуют во всех прокариотических и эукариотических клетках, - они формируют мембраны и благодаря полиненасыщенным жирным кислотам поддерживают ее эластичность (текучесть), обеспечивают окружение гидрофобным белкам, выполняют транспортную функцию для липофильных веществ, являются субстратами энергетического обмена, выступают в роли гормонов и вторичных мессенджеров [20], [28], [38]. Согласно современной номенклатуре Международного Союза Теоретической и Прикладной химии (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC), выделяют 8

категорий липидов, объединяющих разные классы и подклассы молекул: жирные кислоты (свободные жирные кислоты, эйкозаноиды, воски), глицеролипиды (триацилглицериды, диацилглицериды, моноацилглицериды), глицерофосфолипиды (плазмалогены, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, фосфатидилглицерол, фосфатидилинозитол, фосфатидная кислота и др.), сфинголипиды (сфингозины, церамиды, сфингомиелины, сульфатиды, цереброзиды, ганглиозиды и др.), жирные спирты (стероиды, стеролы, жирорастворимые витамины), фенольные липиды (жирорастворимые витамины и др. терпены), сахаролипиды и поликетиды (флавоноиды) [20], [28], [38]. В структурной формуле липида также указывается количество атомов углерода, наличие и расположение двойных связей, жирных кислот, а также является ли данный липид изомерным [20], [38]. Интерпретация полученных в исследованиях данных возможна благодаря унифицированной классификации липидов, доступной в следующих международных базах: Lipid Maps (LIPID Metabolites And Pathways Strategy), Lipid Library, Lipid Bank, LIPIDAT, Cyberlipids [20]. Соединения, образованные в результате объединения белков с липидами представлены в специальных базах (GenBank, SwissProt).

Обмен данных гидрофобных биомолекул взаимосвязан с метаболизмом глюкозы и регулируется ферментами. Липиды поступают в клетку посредством транспортных белков мембраны (рецепторы липопротеинов низкой плотности, транспортные белки (6 белков семейства FATP1-6) жирных кислот, транслоказы (CD36) и белки-шапероны, связывающие жирные кислоты), где происходит высвобождение холестерина. Процесс липогенеза *de novo* активируется при повышении потребности клетки в субстратах для построения мембран, синтезе сигнальных молекул посредством их упаковки в везикулы или липосомы, который опосредован посттрансляционным ацилированием белков, а также в создании «депо» из энергоемких липидов, обеспечивающих как физиологические процессы, так и возросшие потребности активно пролиферирующих клеток. Было показано, что белки-шапероны, связывающие жирные кислоты, поддерживают метастатический потенциал клеток РЯ ВСЗ, обеспечивая процессы их распространение в сальник (адипоциты высвобождают интерлейкины 6 и 8 типов, тканевый ингибитор металлопротеиназ 1 типа, а также белок-хемоаттрактант моноцитов 1 типа) и другие органы. Применение тамоксифена оказывает ингибирующее действие на шапероны, что приводит к снижению захвата жирных кислот и активности процессов инвазии. Повышенный синтез данных белков при РЯ ВСЗ обратно взаимосвязан со снижением экспрессии микроРНК miR-409-3p [258].

Процессы, сопряженные с канцерогенезом новообразований яичников, приводят к изменениям метаболома [129], в том числе липидного профиля крови. Ряд липидов обладают опухоль-иницирующей активностью, в связи с чем введен термин «онколипид» [255].

Онколипидомика является разделом метабомики, предметом изучения которого являются специфические или неспецифические сдвиги в механизмах модификации липидного состава жидкостей и тканей при онкологическом процессе [28], [217], [255]. Показано, что высокое содержание разнообразных онколипидов в микроокружении опухоли отображает их способность инициировать и поддерживать процессы инвазии [255]. Наибольшее количество исследований посвящено таким классам липидов как фосфатидилхолины (лизофосфатидилэтаноламин, лизофосфатидилинозитол) и сфингомиелины, поскольку данные липиды превалируют в клетках [6], [168], [223]. По данным опубликованных исследований, дисрегуляция метаболизма липидов наблюдается при различных видах онкологических заболеваний: мочевого пузыря, молочной железы, пищевода, желудка, печени, поджелудочной железы, щитовидной железы, легких, почек, предстательной железы и при колоректальном раке [168]. Было показано, что высокое содержание разнообразных онколипидов в микроокружении опухоли отображает их способность инициировать и поддерживать процессы инвазии [99], [255]. Это указывает на то, что изменение липидного состава крови не только отображает этиологию заболевания, но и коррелирует с повышенным риском поражения лимфатических узлов и наличием прогрессирующей стадии заболевания (например, триацилглицериды (ТАГ), липопротеины низкой и высокой плотности, холестерол). Особенно выраженное повышение ТАГ свойственно для ЗНО яичников, а снижение - для колоректального рака [223]. Однако рядом авторов было показано, что реверсивные изменения данной тенденции при раке яичников наряду с повышением уровня церамидов характерны для метастатического процесса [9]. В частности, было показано, что концентрация отдельных классов фосфолипидов четко коррелирует со степенью распространенности колоректального рака [64], [133], [203]. Такая же ситуация наблюдалась и в случае рака почки, а именно, было установлено, что уровень снижения лизофосфатидилхолинов крови пропорционален степени распространенности заболевания [143]. В работах E.J. Sherubin [86] и соавт. и L. Wang и соавт. [186] была показана взаимосвязь между снижением уровня общей фракции липидов, триглицеридов, липопротеинов высокой, низкой и очень низкой плотности и тяжестью рака ротовой полости. По данным исследования Y. Guo и соавт., значимые изменения обмена липидов могут быть получены при ранних (фосфолипиды, 36:2) и поздних (сфингомиелины (34:1), фосфолипиды (34:2, 34:1), ФХ (36:4, 36:3, 36:2) стадиях рака легкого, однако, данные различались в зависимости от гендерной принадлежности, а также при колоректальном раке (сфингомиелины (34:1), ФХ (34:2, 34:1, 36:3, 36:2), раке желудка (сфингомиелины (34:1), ФХ (34:2, 34:1, 36:4, 36:3, 36:2, причем ФХ (36:4, 36:3, 36:2) были повышены у мужчин с ранней стадией заболевания, а ФХ (34:2) у женщин при прогрессирующей стадии рака желудка), раке поджелудочной железы: при поздней стадии у мужчин отмечено

повышение ФХ (34:1) и снижение (36:4), у женщин – снижение ряда липидов (сфингомиелины (34:1), ФХ (34:2, 36:4, 36:3, 36:2) [217].

Одним из основных аналитических методов в липидомике является ВЭЖХ-МС, позволяющая выполнить предварительное разделение веществ анализируемой пробы. Помимо применения в лабораторных условиях масс-спектрометрический метод был изучен для интраоперационной «молекулярной визуализации» тканей *in vivo* [123]. На основании данных о молекулярном составе аэрозоля, полученного при испарении в процессе электродеструкции инструментом «iKnife» иссекаемого фрагмента, были созданы базы данных по изученным *ex vivo* материалам 302 пациентов, определены спектры у 81 пациента *in vivo* [124]. В данном многоцентровом проспективном исследовании были проанализированы образцы доброкачественных и злокачественных солидных опухолей (опухоль молочной железы, ободочной кишки, головного мозга, печени, легких), фрагменты здоровых тканей и кишечника, с признаками болезни Крона или язвенного колита. На основании различий липидов ряда классов (фосфатидилэтаноламины, фосфатидилхолины, фосфатидные кислоты, фосфатидилсерины, фосфатидилинозитолы, сфингомиелины, кардиолипины, плазмалогены и сульфатиды) были установлены различия первичных опухолей и метастазов. Метод позволяет в режиме реального времени оценить край резекции и получить данные о гистотипе опухоли, сопоставимые по точности с результатами гистологического исследования операционного материала [92].

Несмотря на то, что на данный момент метод не является рутинным для использования в клинической практике, он является наиболее точным для установления биохимических изменений [255]. Липиды являются «удобным» объектом для изучения и построения наглядных диаграмм: например, фосфолипиды хорошо ионизируются и поэтому представлены в масс-спектре интенсивными пиками. В масс-спектре определяют разнообразные молекулярные виды липидов, как было описано выше, некоторые из которых специфичны для рака яичников. МС-подходы для определения изменений липидного профиля крови характеризуются малыми временами и относительной простотой приготовления образцов, а также высокой информативностью получаемых результатов. Регистрируемые в процессе эксперимента характеристические масс-спектры, называемые также «отпечатки пальцев» (fingerprints), позволяют создать классификационную модель для отнесения данного образца сыворотки или плазмы крови к группе нормы или патологии.

Патофизиологическая основа целесообразности исследования липидного профиля в аспекте канцерогенеза ЗНО яичников была исследована разными научными группами. Изменения липидного состава являются патогенетическим результатом ускоренного клеточного деления, нарушения активации ИЗФ-пути, а также более интенсивного  $\beta$ -окисления жирных кислот. Выработка свободных жирных кислот, опосредованная фосфолипазой, и последующее

$\beta$ -окисление способствуют осуществлению биологических процессов неопластических клеток несмотря на блокирование PI3K-AKT-mTOR сигнального пути [99], [125].

Изменения концентрации липидов были зарегистрированы в сыворотке крови, в плазме, в моче, а также в опухолевой ткани и культурах клеток [168]. Все данные относительно роли липидов в опухолевом процессе получены при исследовании как биологических жидкостей [129], так и тканей [26], [254]. Наиболее часто в качестве объекта исследования использовалась кровь: в процессе сравнения профиля липидов при злокачественных и доброкачественных серозных опухолях яичников Vuas M. F. и соавт., Nou Y. и соавт., и др. с помощью метода ВЭЖХ-МС провели профилирование плазмы крови [77], [122], а Hilvo M. и соавт. [26], Braicu E. I. и соавт. [113] изучали изменения липидного профиля сыворотки крови. Значительно меньшее число исследований посвящено анализу перитонеальной жидкости, мочи, слюны и менструального отделяемого. Биологические жидкости содержат опухолевые стромальные клетки (опухоль-ассоциированные макрофаги и фибробласты, регуляторные Т-клетки и супрессорные клетки костного мозга, клетки эндотелия и мезотелия, адипоциты, перициты), компоненты внеклеточного матрикса, а также перечень факторов и молекул, включая провоспалительные цитокины, хемокины, матриксные металлопротеиназы, интегрины и биоактивные факторы липидов.

Повышение концентрации липидов наблюдается в 39% случаев, снижение – в 4%, изменения концентрации не наблюдается – в 57% [136]. Снижение концентрации ряда липидов может быть связано с повышением интенсивности окисления жирных кислот, что также обуславливает повышение содержания кетоновых тел и ацил-карнитинов, а повышение – с синтезом *de novo* жирных кислот для мембран быстро пролиферирующих клеток [113]. При РЯ повышается концентрация лизофосфолипидов и сфинголипид-1-фосфата [256]. В исследовании С. Ке и соавт. было показано повышение содержания в плазме крови на ранних стадиях лизофосфатидилхолинов (ЛФХ) и лизофостатидилэтоноламинов [129] и истощение их пула при метастазировании, что предположительно может быть связано с повышением потребности в данных субстратов для построения и поддержания целостности мембран и обеспечения метаболической активности клеток [153]. Также известно, что при гидролизе триацилглицеридов в адипоцитах сальника образуются свободные жирные кислоты, обеспечивающих возрастающий энергетический запрос при метастазировании РЯ [168].

В исследованиях С. Wefers [76], Y. Xu и соавт. [142] получены данные о повышении концентрации ЛФК в асцитической жидкости (или перитонеальных смывах) пациентов с ЗНО яичников по сравнению с пациентами без данного диагноза. Асцитическая жидкость является динамически меняющейся субстанцией, отображающей опухолево-стромальное взаимодействие и аутокринно / паракринные механизмы. Помимо опухолевых и стромальных клеток,

асцитическая жидкость при РЯ содержит цитокины, хемокины, матриксные металлопротеиназы, интегрины и другие секретируемые молекулы, включая биоактивные липиды [255].

Масс-спектрометрический анализ липидного профиля плазмы крови пригоден не только для диагностики заболеваний [44], но и позволяет прогнозировать исходы клинического течения заболевания [23] и осуществлять мониторинг эффективности проводимого лечения [137], [35]. Была показана взаимосвязь молекулярных механизмов канцерогенеза и изменений липидного профиля, которая может быть изучена с позиций как диагностики, так и предикции течения и исходов рака яичников высокой степени злокачественности. Например, белок, закодированный геном-супрессором опухолевого роста p53, мутация которого выявляется у 95% пациентов с РЯ ВСЗ, взаимодействует с белками, связывающими стерол-регуляторные элементы, а также гуанидиноацетат N-метилтрансферазой, что приводит к повышению экспрессии ферментов биосинтеза жирных кислот и холестерина и ингибированию окисления жирных кислот, что потенцирует анаболизм жирных кислот, рецидивирование и прогрессирование опухолевого процесса [113], [120], [195].

В исследовании J. Li и соавт. было показано, что снижение концентрации ряда липидов было связано с более высоким риском раннего, в том числе платинорезистентного, рецидива рака яичников [78]. Контроль над процессом лечения заключается в мониторинге липидного состава плазмы крови, который возвращается к нормальному состоянию в случае реконвалесценции, либо продолжает изменяться в результате неэффективности проводимой терапии и дальнейшего развития заболевания. Поэтому определение липидного профиля биологических жидкостей и тканей обладает потенциалом стать дополнением к уже существующим прогностическим моделям [35], [137].

М. А. Cuello и соавт. выдвинули гипотезу о наличии у пациентов с ЗНО яичников кластеров, отвечающих за экспрессию генов, ассоциированных с нарушением жирового обмена, что сопровождается сокращением ВБП [68]. Одним из ключевых факторов в процессе опухолевой прогрессии РЯ является воздействие лизофосфатидной кислоты (ЛФК). ЛФК образуется в процессе аутокринного гидролиза ЛФХ мембранно-связанным ферментом аутоаксином, а затем подвергается деградации под действием внеклеточных фосфатаз [255]. Обмен сигналами между липидами опосредован рецепторами, связанными с протеином G [99]. Данные рецепторы активируются различными химическими лигандами, в том числе лизофосфолипидами, а затем передают сигналы через ряд поверхностных клеточных рецепторов в клетку [99]. ЛФК-индуцированные изменения обусловлены онкогенным медиатором с прометастатическим действием фактора транскрипции ETS-1 (гомолог 1 онкогена v-ets вируса эритробластоза), активацией И3Ф-киназного сигнального пути, и матриксных металлопротеиназ (Рисунок 1.6). ЛФК передает сигналы через ряд рецепторов, в том числе через рецепторы,

связанные с G-белком, - было отмечено, что в клетках рака яичников плотность данных рецепторов повышена, особенно 4 и 7 типов. Описанное воздействие запускает каскад внутриклеточных изменений (активацию протеинкиназ (MAPKs), Ras-белков, малой ГТФ-аза (семейство генов Ras homolog, член A) и фосфатидил-инозитол 3(ИЗФ)-киназы (phosphatidylinositol 3-kinase (PtdIns3K)) [255], что приводит к прогрессированию заболевания [99].

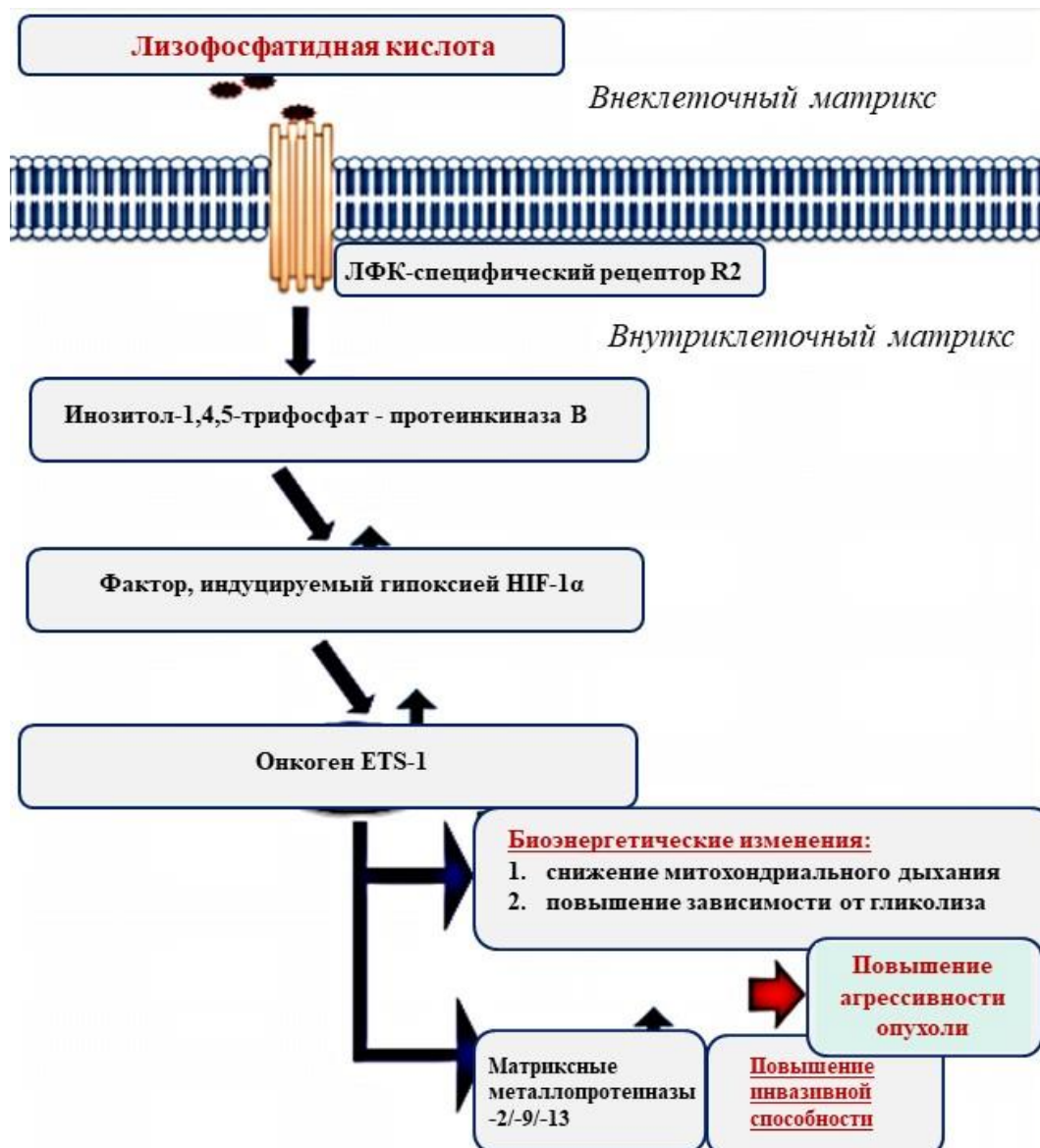


Рисунок 1.6 - ЛФК-индуцированные изменения при метастазировании РЯ: через специфический рецептор R2 ЛФК стимулирует сигнальный путь протеинкиназы В, активирует фактор, индуцируемый гипоксией HIF-1α (Hypoxia-inducible factor 1-alpha) и впоследствии онкоген ETS-1, что приводит к снижению активности митохондриального дыхания и усилению гликолиза, повышению экспрессии специфических протеолитических ферментов, что стимулирует инвазивную способность клеток РЯ [99]

Экспозиция ЛФК в клетках РЯ подавляет процессы окислительного фосфорилирования (аналогично изменениям в клетках в условиях гипоксии) и стимулирует гликолиз [99]. U. Ray и соавт. провели профилирование транскриптома клеток рака яичников (линии SKOV-3, PA-1 и OAW-42) после воздействия ЛФК в определенных условиях, в результате чего ими были

получены данные об изменении регуляции ряда генов и, кроме того, был установлен ряд тенденций, характерных для метаболизма клеток рака яичников, а именно: повышение содержания лактата и снижение потребления кислорода вследствие адаптивного ослабления окислительного фосфорилирования в митохондриях, снижение экспрессии мембранных белков Е-кадгерина и клаудина-7, реорганизация актина. Полученные результаты демонстрируют механизмы развития высокой инвазивной способности клеток рака яичников вследствие генетически-опосредованных изменений, в том числе утраты межклеточных контактов. Таким образом, ЛФК-индуцированные изменения обусловлены онкогенным медиатором с прометастатическим действием фактора транскрипции ETS-1 (гомолог 1 онкогена v-ets вируса эритробластоза), активацией И3Ф-киназного сигнального пути, и матриксных металлопротеиназ [99].

В процессе метастазирования рака яичников в сальник и брюшину ЛФК является одним из хемоаттрактантов (помимо цитокинов и факторов роста) [255]. Главным источником ЛФК плазмы крови являются ЛФХ тромбоцитов [59]. Паранеопластический тромбоцитоз является причиной и следствием активации ЛФК в связи с тромбопоэтической активностью данного липида, с одной стороны, и в связи с повышением его концентрации в условиях интенсивного тромбопоэза, с другой [255]. Кроме того, в исследовании К. Hiramatsu и соавт. было показано, что повышенная экспрессия белковых рецепторов цитоплазматической мембраны к ЛФХ наблюдается чаще при метастатическом поражении сальника и лимфатических узлов и ассоциирована с менее благоприятным прогнозом (снижение общей выживаемости на 41.6 месяцев) [141].

При поиске липидных биомаркеров опухолевого микроокружения рака яичников помимо ЛФК в ряде исследований также показана роль гидроксibuтирата [26], сфингозин-1-фосфата [255], церамидов (особенно d18:1/18:0, d18:0/20:0, d18:1/24:1, d20:1/24:1) и ТАГ (особенно 18:1/18:1/20:4, 18:1/18:1/22:6) [113], [239]. В исследованиях было установлено повышение уровня гидроксibuтирата в сыворотке крови пациентов с раком яичников высокой степени злокачественности, а также предположено прогностическое значение данного потенциального маркера [26], [91], [113], [125], [168], [176]. Было отмечено, что при наличии метастазов повышается уровни специфических церамидов и ТАГ [113].

Возможно предположить взаимосвязь между изменением липидного профиля и лимфогенным метастазированием [176]. Сведения по данному вопросу в доступной литературе ограничены. Однако, согласно результатам исследований F. Ghahremanfard и соавт., липидный состав (ТАГ, холестерол, липопротеины низкой плотности, липопротеины высокой плотности) не отображает степень поражения лимфатических узлов при раке яичников [239].

Анализ литературы данных позволил обобщить результаты исследований об изменении содержания субстратов в биологических жидкостях при заболеваниях яичников (Таблица 1.8) [1].

Таблица 1.8 – Изменение содержания липидов в биологических жидкостях при ЗНО яичников [78], [122], [168], и после овариэктомии [214]

<b>Заболевание (состояние), биологический материал</b>	<b>Снижение</b>	<b>Повышение</b>
<b>ЗНО яичников, плазма крови, сыворотка крови</b>	<p>Глицерофосфолипиды (фосфатидилхолины - ФХ, ЛФХ), эфиры холестерина, глюкозил/галактозил церамиды, церамиды с 24:0 жирными кислотами на конце углеводородной цепи, сфингомиелины, триацилглицериды с короткими остатками жирных кислот на конце цепи, липопротеины высокой плотности (ЛПВП), аполипопротеин А1.</p> <p>При метастазировании: ЛФХ и лизофосфатидилэтаноламины.</p> <p>Конкретные представители классов: LPA 16:0, LPA 20:4 LPA 16:0, LPA 18:1, LPA 18:0, LPA 20:4</p>	<p>Церамиды с 18:0, 20:0 и 24:1 жирными кислотами на конце углеводородной цепи, триацилглицериды с длинными остатками жирных кислот на конце цепи.</p> <p>Триацилглицериды ЛФК Гидроксibuтират</p> <p>При ранних стадиях рака яичников: ЛФХ и лизофосфатидилэтаноламины.</p> <p>Конкретные представители классов: LPS O-18:0, CE 18:3, TG 48:2, PG P-32:0, TG 48:3, PS O-34:1, TG 54:9, TG 50:5, TG 50:4, PE 38:4, TG 48:1, LPS O-20:0, PE 38:4, TG 50:1 Церамиды (d18:1/18:0, d18:0/18:0) и триацилглицериды (18:1/18:1/20:4).</p>
<b>ЗНО яичников, замороженные ткани опухоли</b>	сульфатиды / сульфатированные гексозилцерамиды (SHexCer).	PC (32:3), PC (34:1), PC (36:2) фосфатидилхолины
<b>ЗНО яичников, рецидив после хирургического лечения, плазма крови</b>	Триацилглицериды, сфинголипиды (церамиды (d18:1/23:0) и сфингомиелины (d18:1/14:0), (d18:2/14:0)), фосфатидилинозитолы, ЛФК, ЛФХ, плазменилхолин, плазменилэтаноламин (PC 31:2, PE P-42:4)	LPC P-15:0, LPC O-16:0, LPC 18:1, LPC 18:0, LPG 20:5, LPC 20:3, LPC 22:6, Cer 41:1, SM 32:2, SM 32:1, PC P-34:4, PC 34:4, PC P-36:3, PE P-40:6, PC 36:3, PC 36:1, PC 38:6, PC 38:4, PC 38:3, PC 38:2, PC P-40:6, PG 39:1, PC 40:5, PC 42:11, LacCer 34:1, PS 32:6, PI 40:9, PI 42:9, PI 40:7
<b>Овариэктомия, эксперимент на животных</b>	Церамиды и фосфолипиды	Триацилглицериды

Поскольку выше были описаны механизмы онколипид-опосредованной агрессивности рака яичников, в том числе вследствие индукции ETS-1, предполагается перспективная возможность воздействия на данные звенья канцерогенеза при формировании стратегии

персонализированной терапии, в том числе прицельное воздействие на сигнальные пути и применение моноклональных антител в будущем [99], [141], [223]. Липидный профиль обладает потенциалом стать дополнением к уже существующим диагностическим и прогностическим моделям.

#### **1.4.2 Изучение метаболома крови методом спектроскопического ядерного магнитного резонанса для диагностики опухолей и опухолевидных образований яичников**

Метод ядерного магнитного резонанса (ЯМР) является еще одним высокоточным спектроскопическим методом изучения биохимических процессов с позиций метаболомики. Результаты анализа ЯМР предоставляют информацию о концентрации веществ в миллионных долях (ppm, части на миллион, от англ. «parts per million»). Также метод характеризуется высокой скоростью анализа образцов в эксперименте, в связи с возможностью одномоментной работы с большим количеством образцов.

В одном из наиболее ранних исследований, опубликованная в 2000 г. E.A. Boss и соавт. был изучен состав жидкостного содержимого кист яичников, в котором наблюдалось изменение следующих метаболитов: повышение изолейцина, валина, треонина, лактата, лизина, метионина, глутамина и холина [114]. В более поздней работе M. Kyriakides, помимо сопоставимых данных о повышении лизина, также было выявлено снижение содержания в фолликулярной жидкости цитрата [154].

В 2005 г. K. Odunsi и соавт. было проведено исследование, в котором методом ЯМР проведено сравнение профилей метаболитов сыворотки крови пациентов с злокачественными и доброкачественными опухолями яичников, а также образцов крови исследуемых группы контроля (38, 12 и 51 пациент, соответственно) [71]. На основании данных спектрального анализа крови авторы получили изменения метаболомного профиля следующего характера: образцы пациентов были дифференцированы по имеющимся нозологиям с высокой диагностической точностью (чувствительность и специфичность использования метода для отличия образцов крови пациентов с РЯ от образцов крови наблюдаемых группы контроля достигли 100%, AUC = 1), также было отмечено повышение 3-гидроксипутирата при РЯ.

Помимо изучения метаболитов крови С.М. Slupsky и соавт., проводили исследование, в малоинвазивный анализ состава мочи пациентов с ЗНО яичников [218]. Исследование подразумевало основной (40 пациентов с эпителиальными ЗНО, 62 наблюдаемых из группы контроля) и валидирующий (по 10 пациентов в основной группе и группе контроля) этапы. В исследуемых образцах больных РЯ было получено снижение метаболитов: кретинин, ацетат, сукцинат, левоглюкозан, лактат, пироглутамат, формат, изолейцин, сукроза, тригонеллин, лейцин, аспарагин, мочевины, глюкоза, этаноламин, диметиламин, 4-гидроксибензилацетат,

креатинин, аланин, гиппурат, 1-метилникотинамид, урацил, валин, транс-аконитат и метанол (специфичность 99%).

Исследование G. Garg и соавт. было посвящено изучению непосредственно опухолевой ткани [232]. По данным авторов, метод позволяет по метаболомному профилю дифференцировать не только злокачественные (n=34) опухоли от доброкачественных (n=17), но и новообразования различных гистотипов: было отмечено повышение содержания фосфатидилхолинов при РЯ ВСЗ (n=19) и повышение метионина в тканях РЯ НСЗ (n=15).

Метод ЯМР является воспроизводимым и высокочувствительным, в связи с чем дальнейшие исследования являются перспективными, особенно с позиций диагностики ООВОЯ при помощи жидкостной биопсии.

#### **1.4.3 Исследование малых некодирующих рибонуклеиновых кислот крови методом высокопроизводительного секвенирования в норме и при заболеваниях яичников**

Благодаря развитию новых молекулярно-генетических технологий, в частности секвенирования, проводится активное исследование роли малых некодирующих рибонуклеиновых кислот (микроРНК, *англ. miRNAs*). МикроРНК - это эндогенные одноцепочечные молекулы, состоящие из 18-24 нуклеотидов, они регулируют экспрессию около 30% генов на посттранскрипционном уровне [36], [49], [69], а также участвуют в межклеточных коммуникациях. Биогенез микроРНК в клетке происходит сначала в ядре, а затем в цитоплазме [156]. МикроРНК секретируются клетками в норме и при патологических процессах. Они вовлечены в ключевые этапы органогенеза, иммунного ответа, процессы пролиферации, ангиогенеза, и репарации, также изменение экспрессии микроРНК наблюдается при ответе на проводимую терапию [49], [257].

Циркулирующие микроРНК обнаружены практически во всех жидкостях организма, в сыворотке [161] и плазме [257], [187] крови, в слюне, моче, асцитической и спинномозговой жидкостях, околоплодных водах [51], [257]. К наиболее изученным при заболеваниях яичников относятся микроРНК семейств *miR-199*, *miR-200* и *let-7 (the human lethal-7)* [208], [257], [55], [139]. Были проведены исследования, результаты которых свидетельствуют о повышении диагностической точности общедоступных клинических методов (определение маркеров крови, в первую очередь, СА 125, данные ультразвукового исследования) при совместном применении с анализом профиля микроРНК [243]. Определение изменения белка СА 125 в крови пациентов с различными воспалительными и пролиферативными процессами яичников не демонстрирует достаточной диагностической точности, однако продолжает активно применяться в клинической практике в связи с отсутствием альтернативных онкомаркеров. В связи с чем продолжаются исследования, направленные на поиск новых субстратов и дополнительных инструментов

неинвазивной диагностики. Y. Su и соавт. было показано, что совместное исследование экзосомальных микроРНК (miR-375 и miR-1307) сыворотки крови и маркеров СА 125 и НЕ4 повышает диагностическую точность жидкостной биопсии при раке яичников [243].

В межклеточное пространство или циркуляторное русло микроРНК могут секретироваться в комплексе со специфическими белками либо в составе внеклеточных мембранных везикул, экзосом [56]. Экзосомы являются разновидностью внеклеточных везикул, содержащих специфический молекулярный репертуар, благодаря которому они способны влиять на активность клеток-мишеней [56], [93]. Изменение состава циркулирующих экзосом, в частности содержания микроРНК, может отражать активность патологического процесса, и в этой связи экзосомальные микроРНК рассматриваются в качестве перспективных неинвазивных маркеров [134]. Анализ профиля дифференциально экспрессированных микроРНК (ДЭМ) в экзосомах позволяет с большей вероятностью диагностировать и дифференцировать патологические процессы по сравнению с исследованием свободно циркулирующих микроРНК в сыворотке или плазме крови, поскольку микроРНК в составе экзосом и микроРНК, связанные с белками и липидами, являются наиболее стабильными к внешним воздействиям. В ряде исследований был изучен диагностический потенциал циркулирующих микроРНК при различных типах рака яичника [234]. Результаты оказались противоречивыми, что может быть обусловлено несколькими причинами: различиями в методах отбора и группировки пациентов, использовании сыворотки или плазмы крови, а также в методах детекции и идентификации микроРНК. В большинстве исследований анализировался общий состав микроРНК плазмы или сыворотки крови без индивидуального анализа экзосомальных фракций. Согласно данным литературы, было проведено ограниченное число исследований, посвященных изучению диагностического потенциала определения микроРНК в составе экзосом при РЯ и ЭКЯ, в частности с использованием секвенирования нового поколения, метода, позволяющего оценить полный спектр микроРНК [161], [184], необходимо отметить, что состав циркулирующих экзосомальных микроРНК при эндометриозе остается практически не изученным. Еще одним ограничением исследований в данной области является применение в подавляющем большинстве работ метода ПЦР, который, обладая высокой чувствительностью в определении конкретных микроРНК, не позволяет оценить весь спектр микроРНК в исследуемых образцах. В этой связи, в данной работе был использован метод секвенирования нового поколения, позволяющий проводить наиболее полное профилирование экзосомальных микроРНК.

Помимо маркерной и предикторной ценности микроРНК в составе экзосом или липидных нано-частиц также обладают потенциалом выступать в качестве терапевтических агентов в лечении рефрактерных солидных опухолей и злокачественных гематологических процессов [18], [49].

### 1.5 Лечебная тактика при злокачественных новообразованиях яичников

Объем и характер первичного лечения имеют решающее значение в прогнозе выживаемости пациента с ЗНО яичников и качестве его жизни. Согласно данным мировых сообществ, ESMO-ESGO (the European Society for Medical Oncology, the European Society of Gynaecological Oncology, страны Европы) [85], [88], NCCN (National Comprehensive Cancer Network, США) [170], регламентирующих тактику на основании релевантных рекомендаций и принципов доказательной медицины, наилучшие онкологические результаты при распространенном раке яичников обеспечивает выполнение циторедуктивной операции (ЦРО) без остаточной опухоли. ЦРО включает выполнение лапаротомии, ревизии органов брюшной полости, аспирацию асцита и смывов с брюшины диафрагмы и латеральных каналов для цитологического исследования, удаление всех визуально идентифицируемых проявлений заболевания, экстирпацию матки с придатками, оментэктомию на уровне поперечной ободочной кишки [225], [226]. ЦРО может включать мультивисцеральную резекцию (удаление метастатически пораженных аппендикса, круглой связки печени, стриппинг куполов диафрагмы, селезенки, резекция кишечника, стенки мочевого пузыря, лимфаденэктомию (ЛАЭ, удаление визуально измененных лимфатических узлов, в том числе кардиодиафрагмальной группы) и т.д.), а также тотальную или субтотальную, в том числе тазовую, перитонэктомию). После проведенной операции проводится оценка состояния брюшной полости. В соответствии с критерием полноты циторедукции (Completeness Cytoreduction, CC) выделяют следующие подгруппы [85], [181]: CC0 (отсутствие остаточной опухоли, трактуется как полная циторедукция), CC1 (размер очагов остаточной опухоли до 2,5 мм), CC2 (размер очагов остаточной опухоли 2,5 мм – 2,5 см) и CC3 (размер очагов остаточной опухоли более 2,5 см). Пятилетняя выживаемость пациентов после полной ЦРО, выполненной при ранних стадиях заболевания, достигает 90% [31], [116].

Поскольку возможности достижения полной ПЦРО ограничены, а коморбидность пациента на момент начала лечения может требовать времени на компенсацию сопутствующих заболеваний, для повышения вероятности проведения циторедукции без остаточной опухоли или для подготовки пациента к операции рассматривается альтернативная тактика, а именно индукционная НАХТ с последующей ИЦРО [128], [204]. Цель проведения НАХТ заключается в достижении лекарственного патоморфоза химиочувствительной опухолевой ткани [50], [110], который сопровождается ее замещением очагами фиброза, уменьшением распространенности опухолевого процесса до ограниченных участков, не регрессировавших на фоне проводимой НАХТ, или полной элиминацией вторичных проявлений перитонеального канцероматоза. Воздействие НАХТ повышает вероятность удаления всех видимых проявлений опухолевого процесса у пациентов, которые изначально не были признаны кандидатами для достижения

полной циторедукции в процессе первичной операции [128]. По данным базы Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER, США), с 2003 по 2010 годы было зафиксировано повышение частоты выполнения ИЦРО при III стадии от 16 до 34% и от 41 до 62% при IV стадии заболевания [244]. За последние 10 лет были проведены крупные рандомизированные контролируемые исследования (РКИ, [230]), посвященные сравнению различных методик лечения распространенного РЯ такие как: EORTC (Gynecological Cancer Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer) 55971 [163], CHORUS (The Chemotherapy OR Upfront Surgery) [192], JCOG0602 (The Japan Clinical Oncology Group) [210] и SCORPION (Surgical COmplications Related to Primary or Interval debulking in Ovarian Neoplasm) [201]. Полученные в них данные свидетельствуют о сопоставимых результатах выживаемости (ОВ, ВБП) пациентов наряду со значительным снижением послеоперационных осложнений после ИЦРО по сравнению с первичной операцией (ПЦРО). Выбор в пользу одной из тактик по-прежнему представляет собой сложную задачу для клинициста и требует дальнейшего исследования с целью конкретизации показаний к каждому методу лечения, объективизации и валидации индексов, учитывающих значимые факторы исходов лечения при распространенном РЯ ВСЗ.

#### Химиотерапевтическое лечение и поддерживающая терапия при ЗНО яичников

В мире проведены крупные исследования, направленные на возможность увеличение длительности ВБП, в которых поддерживающая терапия была назначена по окончании химиотерапии первой линии: EORTC, GOG-0218, SOLO-1, PRIMA, а также исследования III фазы, в рамках которых была изучена эффективность назначения поддерживающей терапии одновременно с курсами химиотерапии первой линии: GOG-0218, VELIA, SOLO-1, PRIMA, PAOLA-1 [188]. PARP (poly (ADP-ribose) polymerase) - ингибиторы – это ингибиторы ферментов посттрансляционной модификации белков, а именно поли-АДФ-рибозилирования, что предотвращает репарацию ДНК в опухолевых клетках при мутациях генов-онкосупрессоров BRCA1, BRCA2 и приводит к апоптозу [65]. Бевацизумаб – это один из антиангиогенных препаратов (наряду с нинтеданибом, пазопанибом), разрешенный FDA (2018 г.) для назначения в качестве поддерживающей терапии при распространенном РЯ.

В исследовании DESKTOP III (the third Descriptive Evaluation of preoperative Selection CriTeria for OPerability in recurrent ovarian cancer, ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01166737, [248]) были получены данные о повышении безрецидивной выживаемости после выполнения повторных циторедуктивных операций при условии соответствия пациентов следующим критериям: вероятность выполнения вмешательства соответствовала PS ECOG = 0 (Performance Status Eastern Cooperative Oncology Group), объем асцита не более 500 мл, первичная

циторедуктивная операция была выполнена в полном объеме, - соответствие данным критерием позволило достичь повторной полной циторедукции у 2/3 пациентов, - данные прогностические критерии в последующем были валидированы в проспективном исследовании DESKTOP II в виде индекса AGO [200]). Данные обоих исследований могут быть экстраполированы на пациентов с платиночувствительными рецидивами, при которых выполнима полная циторедукция. По данным исследования GOG 0213 (Gynaecologic Oncology Group), выполнение повторных оперативных вмешательств с последующим проведением химиотерапевтического лечения демонстрирует преимущества по сравнению с проведением исключительно лекарственного лечения платиночувствительного рецидива РЯ, - было отмечено продление ОВ [212].

На Рисунке 1.5 приведен алгоритм ведения пациентов с эпителиальными ЗНО яичников.

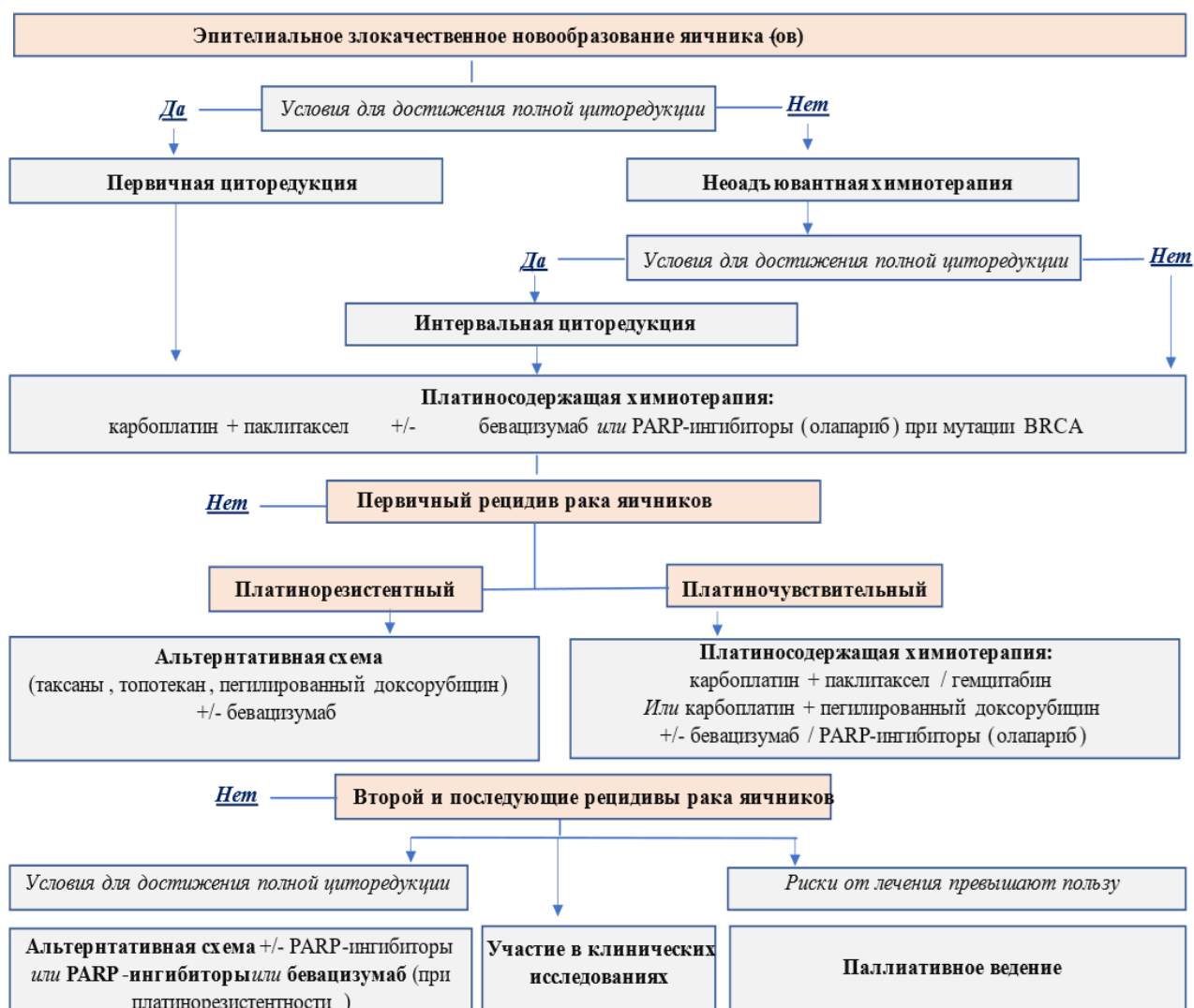


Рисунок 1.5 - Лечебная тактика при первичном раке яичников. Примечания: +/-: с/без; полная циторедукция – т.е. объем остаточной опухоли = 0 см; BRCA: breast cancer gene; PARP-ингибиторы: ингибиторы поли (АДФ-рибоза) полимеразы – олапариб (нирапариб и рукапариб пока не зарегистрированы для применения в РФ)

## Резюме

Возможности методов неинвазивной и визуальной диагностики ООВОЯ ограничены. Вследствие недостаточной информативности какого-либо одного биомаркера, необходимо рассматривать возможность выявления панелей, с высокой точностью дифференцирующих ООВОЯ.

В связи с отсутствием эффективных мер, направленных на выявление РЯ на ранних стадиях, в 2/3 случаев диагноз устанавливается на III-IV стадиях заболевания [193]. Одной из основных задач ведения пациентов с ООВОЯ является выявление и лечение ранних стадий ЗНО яичников [31], [116]. Также важной задачей ведения пациентов с ЗНО яичников является своевременное выявление клинически значимых исходов в процессе мониторинга эффективности проводимого лечения пациентов с РЯ ВСЗ, а именно: рецидив или прогрессирование заболевания, развитие осложнений. Несмотря на то, что эпителиальный рак яичников является платино- и таксаночувствительной опухолью, в 25% случаев встречается феномен химиорезистентности (рецидив спустя менее, чем 6 месяцев после проведенной химиотерапии), который сопровождается высоким риском рецидивирования и прогрессирования [78], [23].

Необходимо продолжение исследований, результаты которых дополнят понимание о молекулярных различиях ООВОЯ.

Таким образом, можно отметить три основных тенденции дальнейшего развития данного научно-практического направления:

1. усовершенствование дифференциальной диагностики ООВОЯ с различным потенциалом злокачественности;
2. усовершенствование диагностики РЯ (обнаружение ранних стадий заболевания, повышение дифференциально-диагностической точности имеющихся методов при помощи их комплексного применения с новыми молекулярными единицами);
3. выявление предикторов неблагоприятного течения заболевания (рецидив, прогрессирование) и нечувствительности к проводимой химиотерапии (химиорезистентность к препаратам первой линии).

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационная работа была выполнена на базе кафедры акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии ИПО ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) в ФГБУ "НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова" Минздрава России (заведующий кафедрой акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии ИПО ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), директор ФГБУ "НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова" Минздрава России - академик РАН, д.м.н., профессор Сухих Г.Т.). Клиническая часть работы проводилась в отделении инновационной онкологии и гинекологии (заведующий - к.м.н. Хабас Г.Н.), в онкологическом отделении хирургических методов лечения (заведующий – д.м.н. Нечушкина В.М.) и хирургическом отделении (заведующий – Чупрынин В.Д.). Гормональное и биохимическое исследование крови выполнено в клинико-диагностической лаборатории (заведующий – Иванец Т.Ю.), МСКТ органов грудной клетки и МРТ органов малого таза и брюшной полости – в отделении лучевой диагностики (заведующий – к.м.н. Быченко В.Г.), УЗИ органов малого таза – в отделении ультразвуковой и функциональной диагностики (заведующий – д.м.н., профессор Гус А.И.). Все послеоперационные препараты удаленных опухолей и опухолевидных образований яичников были изучены в отделении патоморфологии, гистологическое, иммуногистохимическое и цитологическое исследования были проведены в условиях отделения онкопатологии (заведующий – к.м.н. Кометова В.В.) и 1-го патологоанатомического отделения (заведующий – д.м.н. Асатурова А.В.).

Специальные методы исследования осуществлялись в лабораториях отдела системной биологии в репродукции (руководитель – д.ф.м.н. Франкевич В.Е.): масс-спектрометрический анализ образцов крови - в лаборатории протеомики и метаболомики (заведующий – к.б.н. Стародубцева Н.Л.), высокопроизводительное секвенирование нового поколения плазмы крови - в лаборатории молекулярной патофизиологии (заведующий – к.х.н. Бобров М.Ю.). Исследование по изучению метаболома осуществлены под руководством Майбороды О.А. (экспертный клинический Центр Протеомики и Метаболомики, Leiden University Medical Center, Нидерланды). Эксперименты по спектроскопии ЯМР были проведены на базе Центра профессиональной подготовки ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов (руководитель темы - к.х.н. Васильев В.Г.).

Проведение диссертационного исследования было одобрено комиссиями по этике биомедицинских исследований ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России по вопросам медицинской этики (протокол № 10 от 05 декабря 2019 г.), Локальным этическим Комитетом ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 16-19 от 05.12.2019). Исследование было инициировано после

получения одобрения указанных комитетов и выполнено в соответствии с ФЗ РФ от 27.07.2006 года № 152-ФЗ (с изменениями на 29.07.2017 года) «О персональных данных», с Федеральным Законом РФ от 21.11.2011 года № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в РФ» (статья 13 «Соблюдение врачебной тайны»), положениями Хельсинкской декларации со всеми последующими дополнениями и изменениями, регламентирующими научные исследования на биоматериалах, полученных от людей, а также международным руководством для биомедицинских исследований с вовлечением человека (International ethical guidelines for biomedical research involving human subjects) Совета международных организаций медицинских наук (CIOMS).

В исследование были включены пациенты, подписавшие информированное добровольное согласие. Сбор образцов венозной крови в пробирки осуществлялся непосредственно перед операцией до введения антибактериальных, обезболивающих и других препаратов с последующей доставкой в лабораторию в течение 30 минут во избежание погрешностей при получении результатов анализа. Обработка и хранение биоматериалов осуществлена в условиях лаборатории по сбору и хранению биологических материалов Центра (заведующий – Миханошина Н.В.).

## 2.1 Дизайн и конечные точки исследования

Для оценки диагностической точности маркеров и ряда диагностических индексов были сформированы **исследуемые группы** в соответствии с гистологически верифицированными диагнозами. Для выполнения поставленных задач проведены исследования, в которые были включены пациенты, соответствовавшие следующим критериям.

**Критерии включения:** подписанное информированное добровольное согласие, возраст более 18 лет, гистологическая верификация диагноза (РНГЭ и эндометриоидная киста яичника, зрелая тератома, серозная цистаденома, серозная пограничная опухоль яичников, серозный рак яичников низкой или высокой степени злокачественности I-IV стадий по FIGO).

**Критерии не включения:** возраст менее 18 лет, прием гормональных препаратов (комбинированные оральные контрацептивы, заместительная или менопаузальная гормональная терапия) в течение 6 и более мес., патология по данным УЗИ органов малого таза и/или указание на наличие уже выявленных заболеваний репродуктивных органов (в том числе рецидив эндометриоза), пролиферативные процессы, онкологические заболевания на момент проведения исследования или в анамнезе (любая локализация, помимо обозначенных в критериях включения), перенесенные оперативные вмешательства на органах малого таза, сочетание у одного пациента образований различных гистотипов, беременность.

**Критерии исключения:** данные пересмотра стеклопрепаратов о гистотипе злокачественной опухоли яичников, отличающемся от серозного РЯ ВСЗ (эндометриоидный,

муцинозный, светлоклеточный) или сопутствующем ему, первично-множественные опухолевые заболевания, не установленные на момент обращения пациента в Центр по поводу объемного образования яичников (данные о наличии были получены в период послеоперационного наблюдения).

**Группу контроля** составили тщательно опрошенные и предварительно обследованные (выполнено УЗИ органов малого таза, исследованы клинические и биохимические показатели анализов крови и маркеры СА 125 и HE4, рассчитаны индексы ROMA и RMI) наблюдаемые, соответствовавшие критериям включения, невключения и исключения. В первую подгруппу были включены женщины репродуктивного возраста (РВ) и женщин периода менопаузального перехода и постменопаузального возраста (МПВ), согласно критериям, определенным классификации STRAW+10, вторую группу – пациенты постменопаузального возраста).

Таблица 2.1 - Дизайн исследования для решения задач

Дизайн исследования для решения 1, 2, 3, 4 и 6 задач								
Пациенты с ООВОЯ, n = 222					Пациенты группы контроля, n=71			
Цистаденома n=32	ЭКЯ n=58	Тератома n=23	ПОЯ n=30	РЯ НСЗ n=16	РЯ ВСЗ n=63	РВ n=46	МПВ n=26	
<b>Диагностика и дифференциальная диагностика:</b>								
➤ Анализ жалоб, послуживших поводом для обращения								
➤ УЗИ органов малого таза								
➤ Маркеры крови (СА 125, HE4)								
➤ Расчет ROMA, RMI, анализ модели ADNEX								
<b>Хирургическое лечение</b>								
<b>Гистологическая верификация диагноза</b>								
<b>Исследование маркеров крови при помощи омиксных технологий</b>								
<b>Анализ данных</b>								
Дизайн исследования для решения 5, 6 задач								
РЯ ВСЗ, n=111								
Поиск предикторов исхода лечения при помощи омиксных технологий при исследовании крови								
<b>Обратились для первичного лечения</b>								
I-II стадии, n=10				III-IV стадии, n=78				
<b>Лечение</b>								
ПЦРО + ХТ, n = 10 + 54					НАХТ + ИЦРО + ХТ, n = 24			
<b>Анализ исходов комбинированного лечения</b>								
Объем ЦРО		Платиночувствительность			Рецидив		Длительность ВБП, мес.	
полная ЦРО	оптимальная ЦРО	резистентность или рефрактерность	чувствительность	нет n, %	да n, %	полная ЦРО	неполная ЦРО	
<b>Обратились по поводу рецидива заболевания</b>								
I-II стадии, n=7				III-IV стадии, n=16				

Для решения 1, 2, 3 и 4 задач проведен анализ данных, полученных на клиничко-лабораторном этапе ведения пациентов: проанализированы жалобы пациентов, послужившие ведущим поводом для обращения за медицинской помощью, изменения маркеров крови, а также

данные УЗИ органов малого таза в соответствии с дизайном, представленном в Таблице 2.1. Затем при помощи омиксных технологий проведены исследования для выяснения возможностей специальных методов диагностики. Для решения 6 задачи отобраны наиболее точные из изученных методов дифференциальной диагностики ООВОЯ. Для решения 5 и 6 задач проведен анализ факторов, влияющих на эффективность и исходы комбинированного лечения РЯ ВСЗ в соответствии с дизайном, представленном в Таблице 2.1. Проведено исследование крови для поиска маркеров-кандидатов неинвазивной диагностики и предикции исходов лечения. Основную группу составили 111 пациентов с серозным РЯ ВСЗ.

**Конечные точки исследования.** В качестве «золотого стандарта» в клинических исследованиях принято оценивать общую выживаемость пациентов после проведенного лечения [229], однако, в связи с первостепенной значимостью в рамках настоящего исследования оценки диагностических и прогностических параметров, ограниченным временем наблюдения за пациентами и более ранним сроком наступления рецидива по сравнению со смертью, в качестве первичных конечных точек были выбраны длительность выживаемости без прогрессирования [231] и платиночувствительность [202], [207]. С учетом вида лечения, выполненного на первом этапе (хирургическое или химиотерапевтическое), проведено сравнение медиан выживаемости без прогрессирования пациентов после выполнения первичной и интервальной циторедуктивной операции без остаточной опухоли (полная ЦРО) или с остаточными проявлениями опухолевого процесса (оптимальная, неоптимальная ЦРО). В связи с тем, что все пациенты получали стандартные схемы химиотерапевтического лечения, изучена чувствительность к проводимой платиносодержащей химиотерапии у всех пациентов после полной ЦРО. На основании анализа данных диагностических методов были отобраны предикторные факторы онкологических исходов.

## 2.2 Клиническая характеристика пациентов

Диагностический поиск начинался со сбора жалоб пациентов, анализа данных анамнеза заболевания, гинекологического осмотра, УЗИ органов малого таза (Таблица 2.2). При проведении гинекологического исследования органов малого таза в области придатков пальпаторно определялось болезненное или безболезненное одностороннее или двустороннее увеличение придатков за счет объемного гладкостенного смещаемого или фиксированного образования тугоэластической консистенции или каменистой плотности с гладкими и ровными или бугристыми неровными контурами, а также не увеличенные или увеличенные тело матки и придатки, дифференцируемые или в виде единого конгломерата.

Таблица 2.2 – Клинические данные при доброкачественных, пограничных и злокачественных ООВОЯ

Показатели	Доброкачественные опухоли и опухолевидные образования яичников (N80.1 Эндометриоз яичников; D27 Доброкачественное новообразование яичника)		
	Эндометриоидная киста яичников	Цистаденома	Тератома
Жалобы	на тянущие боли нерегулярного характера, отсутствие наступления беременности в течение года и более при регулярной половой жизни без контрацепции (первичное или вторичное бесплодие)		
	нарушение менструального цикла (нерегулярные, или болезненные, или обильные менструации)		
Данные гинекологического осмотра	в области придатков пальпируется объемное образование тугоэластической консистенции / придатки увеличены за счет гладкостенного образования		
Маркеры крови (min - max)			
СА 125, Ед/мл	11,62 – 3 195	8 – 63,42	9 – 187
HE 4, пмоль/л	26,58 – 448,39	34,44 – 245,7	24,2 – 50,12
ROMA	1,4 - 95	3 - 78	2 - 45
Двусторонний процесс	12 / 58 (20,69 %)	12 / 32 (37,5 %)	1 / 23 (4,35 %)
Показания к операции	наличие объемного образования яичников (эндометриоидная киста) размерами более 5 см по данным УЗИ / МРТ / КТ у пациента репродуктивного возраста; выраженный болевой синдром; бесплодие и неэффективность консервативной терапии	наличие объемного образования яичников больших размеров (от 8 до 30 см) по данным УЗИ / МРТ / КТ у пациента репродуктивного возраста; болевой синдром; синдром сдавления внутренних органов; невозможность исключить злокачественный процесс	
Интраоперационное описание	яичник увеличен и деформирован за счет кистозного образования с гладкой капсулой; образование подвижно / яичник вовлечен в инфильтрат, плотно фиксированный к стенке малого таза		
	с содержимым шоколадного цвета	образование с плотной белесоватой гладкой оболочкой; содержимое при вскрытии капсулы после извлечения из брюшной полости - прозрачное желтоватое	при абластичном разрезе капсулы в эндоконтейнере содержимое - жировой детрит
Объем оперативного вмешательства	вылущивание капсулы кисты яичника в пределах здоровых тканей, точечная коагуляция ложа кисты / резекция яичника; адгезиолизис; иссечения очагов (инфильтратов) наружного генитального эндометриоза (шейвинг / резекция очагов колоректального эндометриоза, уретеролиз, резекция мочевого пузыря/мочеточника с уретероцистостомией по типу Боари и т.д.).	вылущивание капсулы кисты яичника в пределах здоровых тканей, точечная коагуляция ложа кисты / резекция яичника / аднексэктомия; срочное гистологическое исследование; хирургическое стадирование	резекция яичника / аднексэктомия; срочное гистологическое исследование; хирургическое стадирование
Терапевтическое лечение	нет; комбинированные оральные контрацептивы; гестагены (диеногест)	не показано	
Рекомендации	Наблюдение гинеколога-эндокринолога, репродуктолога		

Примечание: ИР - индекс резистентности – параметр интенсивности кровотока при проведении УЗИ образований яичников (при злокачественном процессе наблюдается снижение ИР в связи с дефицитом гладких миоцитов в сосудистой стенке и шунтирующим типом кровотока при неоангиогенезе), ER – экспрессия эстрогеновых рецепторов, PgR - экспрессия прогестероновых рецепторов, ХТ - химиотерапия.

Продолжение Таблицы 2.3

	<b>Пограничные и злокачественные новообразования яичников</b> (С56 Злокачественное новообразование яичника)		
	<b>Пограничная опухоль</b>	<b>РЯ НСЗ</b>	<b>РЯ ВСЗ*</b>
<b>Жалобы</b>	на тянущие боли нерегулярного характера, первичное или вторичное бесплодие (1 из пациентов репродуктивного возраста с РЯ ВСЗ)		
		слабость, увеличение живота в объеме, снижение массы тела в течение последних 6 мес. на фоне снижения физической активности, на диспепсию	
<b>Данные гинекологического осмотра</b>	образование тугоэластической консистенции		
		образование придатков неправильной формы, ограниченно подвижное при пальпации, с бугристыми неровными контурами / увеличенные тело матки и придатки в виде единого конгломерата с бугристыми неровными контурами; увеличение живота в объеме за счет асцита	
<b>Маркеры крови (min - max)</b>			
СА 125, Ед/мл	3 – 764	7,14 – 1 685	9,7 – 12 000
HE 4, пмоль/л	31 – 316	44 – 299	20 – 3 226
ROMA	2 - 88	6,4 – 87,5	13,05 – 99,8
<b>Двусторонний процесс</b>	2 / 30 (6,67 %)	4 / 16 (25 %)	41 / 63 (65,08 %)
<b>Показания к операции</b>	увеличение размеров образования в постменопаузе по данным динамического наблюдения; невозможность исключить злокачественный процесс / наличие гистологически верифицированного злокачественного новообразования яичников (проведена трепан-биопсия), показано проведение оперативного вмешательства с соблюдением онкологических принципов.		
	биологическое течение заболевания, репродуктивные планы	данные цитологического исследования асцитической жидкости, полученной при лапароцентезе	
<b>Интраоперационное описание</b>	Единичные опухолевые импланты на сальнике / по брюшине. Яичник в спасных сращениях со стенкой таза, на поверхности папиллярные разрастания	яичник увеличен и деформирован за счет образования преимущественно солидной структуры, с папиллярными разрастаниями по поверхности капсулы; опухолевый конгломерат; имплантационные метастазы, поражающие брюшину, сальник и т.д.	придатки и тело матки представлены единым несмещаемым конгломератом, плотно вколоченным в малый таз с вовлечением соседних органов и прядей большого сальника (omental cake), канцероматоз, визуализируются множественные метастазы, пальпаторно определяются множественные увеличенные, плотные, несмещаемые ЛУ
<b>Объем оперативного вмешательства</b>	взятие асцита или тазовых смывов, срочное гистологическое исследование опухоли		
	стадирование, органосберегающий объем лечения (резекция яичника / аднексэктомия)	первичная ЦРО	первичная или интервальная ЦРО
<b>Терапевтическое лечение</b>	нет	нет, адьювантная ХТ	неoadьювантная или адьювантная ХТ
<b>Рекомендации</b>	наблюдение онколога в соответствии с клиническими рекомендациями [7]	наблюдение онколога в соответствии с клиническими рекомендациями [16]	
	рассмотрение вопроса о дальнейшем лечении при возникновении признаков рецидива или после реализации репродуктивной функции		

## 2.2.1 Данные методов визуальной диагностики. Семиотика

### Ультразвуковое исследование органов малого таза

На первом этапе проведено УЗИ органов малого таза в качестве метода, позволяющего получить общие данные об образовании яичников, а также маточных труб, эндометрия, шейки матки, о наличии свободной жидкости в малом тазу.

Эхографическая характеристика опухолей и опухолевидных образований яичников была следующей:

- эндометриоидная киста: округлое ан- / гипо - / изоэхогенное образование с мелкодисперсной несмещаемой взвесью, кровотока отсутствует;
- серозная цистаденома: тонкостенное, чаще однокамерное, жидкостное образование; с анэхогенным содержимым; возможно наличие внутренней перегородкой без зон патологического кровотока, незначительное утолщение капсулы;
- зрелая тератома яичников чаще представлена образованием повышенной эхогенности (при преобладании жирового компонента), встречается сочетание участков пониженной и повышенной эхогенности, при наличии волосяного компонента при УЗИ определяются участки поперечной исчерченности, при цветовом доплеровском картировании (ЦДК) зона кровотока не визуализируется;
- серозно-папиллярная опухоль яичника: анэхогенное образование возможно наличие перегородок, с единичными или множественными папиллярными разрастаниями без зон васкуляризации;
- серозная папиллярная аденокарцинома яичника низкой степени злокачественности (low grade): яичник содержит жидкостное образование с анэхогенным содержимым, с единичными / множественными папиллярными разрастаниями толщиной до 5 до 35 мм на разных участках и внутренней перегородкой, при ЦДК отмечаются зоны васкуляризации, возможно наличие мозаичного кровотока (индекс резистентности (ИР) в перегородке и разрастаниях - 0,5 и более);
- серозная аденокарцинома яичника высокой степени злокачественности (high grade): яичник представлен солидно - кистозным образованием с мелкодисперсной взвесью, выстилка капсулы неравномерной толщины, бугристая, с многочисленными зонами васкуляризации, с признаками мозаичного и низкорезистентного кровотока (ИР: 0,38 – 0,43); с множественными разнонаправленными перегородками; неровными контурами; на поверхности образования определяется папиллярные разрастания; в области малого таза определяется свободная жидкость (в некоторых случаях сочетается с асцитом).

В последующем всем пациентам с подозрением на наличие злокачественного новообразования яичников были выполнены исследования: в качестве уточняющего метода

диагностики МРТ органов малого таза и брюшной полости, маммография у пациентов 40 лет и старше и у пациентов до 40 лет группы высокого риска по развитию наследственного синдрома первично-множественных опухолей, анализ изменений онкомаркеров эпителиальных и неэпителиальных опухолей яичников (СА 125, HE4, СА 19-9, РЭА, ингибин В, АМГ, ЛДГ,  $\alpha$ -фетопротеин,  $\beta$ -ХГЧ), МСКТ органов грудной клетки, гастро- и колоноскопия.

### **Магнитно-резонансная томография органов малого таза**

Магнитно-резонансная томография (МРТ) является одним из наиболее информативных неинвазивных методов визуальной диагностики благодаря высокой разрешающей способности современного оборудования, а также возможности одномоментного получения клинически значимой информации об анатомическом расположении и функциональном состоянии тканей и органов нескольких систем. МРТ органов малого таза было проведено в качестве метода уточняющей диагностики для получения данных о характере образования (размеры, признаки злокачественного процесса, локализация и распространение) и других органов зоны интереса. МР-семиотика образований яичников представлена ниже.

- Эндометриоидная киста: кистозная структура в строме яичника с повышенным МР-сигналом на T1-взвешенных изображениях (без снижения в режиме жироподавления «FatSat»), в ряде случаев седиментация содержимого, в крупных кистах могут визуализироваться пристеночные тромбы без признаков накопления контрастного препарата (в отличие от истинных мягкотканых компонентов);
- зрелая тератома: кистозно-солидное / преобладающе кистозное образование с четкими ровными контурами, с неоднородной МР-структурой в связи с наличием жирового компонента (повышенная интенсивность сигнала на T1- взвешенных изображениях, резкое снижение в режиме «FatSat»), солидный компонент (дермоидный бугорок) с переменной интенсивностью сигнала, характеристиками в режиме DWI (Diffusion weighted imaging - диффузно-взвешенная визуализация) и накоплением контрастного препарата за счет морфологически полиморфных элементов (кости, хрящи, волосы, ногти);
- гладкостенная серозная цистаденома: кистозное образование правильной овальной формы с однородным содержимым, стенка тонкая / диффузно до 2 – 3 мм без локальных утолщений;
- серозная пограничная папиллярная опухоль: кистозное образование, по контуру (внутреннему/наружному) капсулы с наличием папиллярных образований с неоднородной интенсивностью сигнала на T2-взвешенных изображениях, признаками ограничения диффузии в режиме DWI, неоднородным накоплением контрастного препарата (характерна динамическая кривая второго типа);

- серозная папиллярная цистаденокарцинома яичника низкой степени злокачественности (low grade): как правило, многокамерное образование с папиллярными разрастаниями, характеризующимися метаболической активностью, - с умеренным ограничением диффузии в режиме DWI, неоднородным накоплением контрастного препарата (характерна динамическая кривая второго типа), при вторичном поражении брюшины – незначительная метаболическая активность;
- серозная цистаденокарцинома яичника высокой степени злокачественности (high grade): преимущественно кистозные / кистозно-солидные образования яичника (-ов) с четкими, неровными контурами с наличием мягкотканых разрастаний и/или папиллярных компонентов, неоднородного утолщения перегородок с метаболически активным компонентом, выраженное ограничение диффузии, ранним активным накоплением контрастного препарата (динамическая кривая третьего типа), с признаками инфильтративного роста, вторичное поражение брюшины с высокой метаболической активностью (канцероматоз), в ряде случаев вторичная лимфаденопатия, асцит.

### **2.2.2 Хирургическое лечение пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников**

После предоперационной диагностики пациентам было выполнено оперативное вмешательство, показаниями явились (Таблица 2.3): наличие объемного образования яичников, болевой синдром, большой размер образования, бесплодие при исключении других факторов, наличие данных о злокачественном процессе (повышение маркеров (СА 125, HE4), наличие асцита, патогномоничные признаки по данным методов визуальной диагностики: канцероматоз брюшины, солидное или кистозно-солидное образование с характерным кровотоком, выявление клеток опухоли в асцитической жидкости, полученной при лапароцентезе, верифицированная опухоль, по данным гистологического исследования материала, полученного при трепан-биопсии опухоли), а также наличие сочетанной патологии.

Диагноз пациентам исследуемых групп был верифицирован при плановом гистологическом исследовании материала (ткань доброкачественной или злокачественной опухоли, ткань кисты). При подозрении на злокачественный процесс и расположения опухоли вблизи заднего свода влагалища («вколоченная опухоль») пациентам предоперационно была проведена трепан-биопсия опухоли (через задний свод влагалища) или доступного измененного лимфатического узла (например, паховый). При получении данных о наличии асцита или плеврального выпота под УЗИ-контролем был проведен лапароцентез или торакоцентез, соответственно, для цитологического исследования. При отсутствии условий для выполнения верификации с помощью малоинвазивных методов биопсия опухоли была выполнена интраоперационно в

процессе диагностической или стадирующей операции. При получении данных о наличии ЗНО проводилась оценка распространения процесса для определения дальнейшей лечебной тактики: рентгенография или КТ органов грудной клетки, гастроскопия, колоноскопия, МРТ головного мозга.

Всем пациентам за исключением наблюдаемых группы контроля проведено хирургическое вмешательство по поводу ООВОЯ. Перед оперативным вмешательством пациенты подписывали информированное добровольное согласие на объем хирургического вмешательства. Лечение проведено в соответствии с действующими рекомендациями, одобренными Минздравом РФ [16]. Лечебно-диагностическая тактика была обсуждена в условиях междисциплинарного консилиума (онколог-хирург, онколог-химиотерапевт, морфолог, акушеры-гинекологи, радиотерапевт, другие специалисты при необходимости). Заранее были обсуждены возможности органосохраняющего и вероятность органосохраняющего лечения в том числе с учетом желания пациента (сохранение репродуктивных органов при онкологическом заболевании, выполнение органосохраняющего объема операции в связи с наличием наследственной предрасположенности или подтвержденной мутации в генах BRCA при реализованной репродуктивной функции). При нереализованной репродуктивной функции после консультации акушеров-гинекологов, специализирующихся в вопросах репродуктивного здоровья женщин, принималось решение о возможности выполнения лечения в соответствии с принципами онкофертильности: сохранение генетического материала (для криоконсервации ооцитов или эмбрионов) на предоперационном этапе или получение овариальной ткани интраоперационно (для последующей криоконсервации).

По поводу ЭКЯ, серозных цистаденом, зрелых тератом выполнялось удаление образования в пределах здоровых тканей яичника или односторонняя аднексэктомия.

С позиций онкологической настороженности при подозрении на злокачественный процесс по данным, полученным на предоперационном этапе, при интраоперационной ревизии органов брюшной полости, а также при получении результатов срочного гистологического исследования, выполнялись этапы хирургического стадирования [16]: последовательная ревизия всех отделов брюшной полости, взятие для цитологического исследования асцитической жидкости или смывов с брюшины диафрагмальной поверхности, латеральных каналов и малого таза, адгезиолизис, биопсия всех очагов, наличие которых может указывать на их метастатический характер, при их отсутствии выполняется мультифокальная биопсия брюшины всех отделов, оментэктомия, селективная тазовая и поясничная лимфаденэктомия.

При ПОЯ, РЯ ВСЗ и РЯ НСЗ объем оперативного вмешательства соответствовал критериям полной первичной циторедуктивной операции при ЗНО яичников, - стремление к удалению всех видимых проявлений опухолевого процесса (первичная опухоль, метастатически пораженные

органы). При ПОЯ при нереализованной репродуктивной функции по заключению онкологического консилиума был выбран органосберегающий объем операции (консервативная или ультраконсервативная тактика лечения) с выполнением всех этапов хирургического стадирования.

Дальнейшая тактика была определена на основании данных планового гистологического исследования удаленного материала. Объем оперативного вмешательства считался достаточным в случае соответствия гистологического заключения предполагаемому установленному на предоперационном и интраоперационном этапах диагнозу. В случае расхождения данных после информированного добровольного согласия пациента проводилось повторное вмешательство с соблюдением онкологических принципов для достижения объема, соответствующего критериям оказания помощи пациентам, регламентированным российскими клиническими рекомендациями.

### **2.2.3 Гистологическое и иммуногистохимическое исследования тканей опухолей и опухолевидных образований яичников**

Согласно новой гистологической классификации 5-го пересмотра (WHO, 2020) выделяют 12 групп опухолей яичников: серозные, муцинозные, эндометриоидные, светлоклеточные, серомуцинозные, опухоли Бреннера, другие карциномы, мезенхимальные опухоли, смешанные эпителиально-мезенхимальные, опухоли стромы полового тяжа, герминогенные опухоли, редкие варианты опухолей. В данном исследовании встречались следующие варианты опухолей и опухолеподобных образований яичника: эндометриоидная киста, серозная цистаденома, пограничная серозная опухоль яичника, серозная цистаденокарцинома и зрелая тератома.

#### **Гистологическое исследование**

При патологоанатомическом исследовании образований яичников была получена следующая макроскопическая картина:

1) Эндометриоидная киста яичника чаще была представлена в виде вскрытой кистозной полости с геморрагическим или «шоколадным» содержимым с шероховатой серо-бурой внутренней поверхностью. Микроскопически эндометриоидная киста яичника была представлена фиброзной стенкой с эндометриальной выстилкой (при активной форме эндометриоза) либо цитогенной стромой с гемосидерозом и ксантогранулематозной реакцией (при неактивной форме эндометриоза).

2) Серозная цистаденома макроскопически была представлена однокамерной или многокамерной кистой с тонкой серо-розовой стенкой с гладкими блестящими наружной и внутренней поверхностями. Микроскопически стенка серозной кисты выстлана однородным кубическим (серозным) эпителием без атипии клеток.

3) Зрелая тератома яичника макроскопически чаще была представлена однокамерной кистой с гладкой серой наружной поверхностью. При разрезе киста содержала волосы, салную желтоватую ткань, иногда зубы, хрящеподобное и костное содержимое. Микроскопически содержимое кисты могло быть представлено зрелыми структурами от одного до трёх (всех) зародышевых листков: жировой, костной, хрящевой тканью (мезодерма), элементами дыхательной и пищеварительной трубки (энтодерма), тканью слюнных желез, эпидермисом и придатками кожи, а также нервной тканью (зрелой нейроглии, сосудистым сплетением; эктодерма).

4) Серозная пограничная опухоль яичника при макроскопической вырезке чаще имела вид одно- или многокамерной кисты с серо-розовой поверхностью и с мелкими сосочковыми структурами на внутренней поверхности, которые занимали различную площадь поражения и крошились при разрезе. Микроскопически эта опухоль характеризовалась наличием папиллярных структур, выстланных полиморфными клетками с атипией от слабой до выраженной, имеющих однорядное или многорядное расположение по поверхности сосочковых структур. Ряд опухолей имел фокусы микропапиллярного типа строения, что характеризуется худшим прогнозом по сравнению с классическим строением пограничной серозной опухоли яичника. Часто отмечалось наличие псаммомных телец, которые могли быть единичными и множественными. В части случаев были обнаружены неинвазивные и/или инвазивные перитонеальные импланты по брюшине малого таза и/или брюшной полости (в том числе в большом сальнике).

5) Серозная папиллярная цистаденокарцинома яичника (-ов) низкой степени злокачественности (low grade) имела вид многокамерного кистозного образования с папиллярными и солидными участками из серо-розовой опухолевой ткани в различном соотношении компонентов. Микроскопически цистаденокарцинома яичника имела участки glandулярного и папиллярного строения из атипических клеток с низким ядерным полиморфизмом, с небольшим количеством атипических митозов; как правило, с множественными псаммомными тельцами в толще и по поверхности яичника; с инвазией капсулы образования яичника. В большинстве случаев отмечалось наличие перитонеальных имплантов – неинвазивных либо инвазивных – по брюшине малого таза и/или в большом сальнике. Лимфоваскулярная инвазия встречалась редко.

6) Серозная карцинома яичника (-ов) высокой степени злокачественности (high grade) имела макроскопический вид солидного образования, которое при разрезе содержало множество кистозных полостей, заполненных геморрагическим или серозным содержимым. Опухоль имела солидные участки, построенные из ткани серо-желтого цвета, мягкой консистенции, местами с участками некрозов и кровоизлияний. Микроскопически опухоль была представлена полями

ацинарных, папиллярных и солидных раковых структур из полиморфных базофильных клеток с множественными фигурами митозов с выраженной атипией ядер, с фокусами некрозов и кровоизлияний, с инвазией фиброзных перегородок и капсулы образования, часто с прорастанием на наружную поверхность; с наличием лимфоваскулярной инвазии.

Консультативный пересмотр гистологических микропрепаратов, полученных в результате хирургического оперативного вмешательства в другом лечебном учреждении, был выполнен в 27 случаях. Расхождений данных с первоначальным диагнозом получено не было.

### **Иммуногистохимическое исследование**

Для дифференциальной диагностики серозных опухолей яичников выполнялась ИГХ-реакция со следующими маркерами: PAX-8 (производитель CellMarque), p16 (клон CINtec p16, производитель Ventana), p53 (Bp53-11, производитель Ventana), Ki-67 (SP6, CellMarque), WT1 (6F-H2, производитель CellMarque), Vimentin (V9, производитель Ventana), Bcl-2 (124, производитель Ventana).

При ЭКЯ, серозной цистаденоме и зрелой тератоме яичников проведения ИГХ-исследования в дополнение к гистологическому исследованию не требовалось за исключением ряда случаев для исключения незрелого нейроглиального компонента при тератомах яичников, - определялись маркеры: NSE (производитель SpringBioScience), S100 (клон 4C4.9, производитель Ventana), CD56 (клон MRQ-42, производитель CellMarque), OCT-4 (клон MRQ-10, производитель CellMarque), SALL-4 (EE-30, производитель SantaCruzBiotechnology). В зрелой нейроглии тератом была обнаружена выраженная цитоплазматическая экспрессия маркеров CD56 и S100. Последний также экспрессировался в элементах гиалинового хряща и жировой ткани. Маркер CK20 (клон SP33, Ventana) имел положительную экспрессию в кишечном эпителии эндодермального листка.

#### **2.2.4 Тактика ведения пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников**

Всем пациентам с ДОЯ было рекомендовано наблюдение у гинеколога-эндокринолога и специалиста-репродуктолога. Всем пациентам с ПОЯ или ЗНО было рекомендовано наблюдение у гинеколога-онколога, были даны рекомендации по соблюдению сроков проведения контрольных диагностических исследований. При наличии репродуктивных планов у пациентов с ПОЯ была показана повторная консультация специалиста-репродуктолога, наблюдение онколога, рассмотрение вопроса о дальнейшем лечении при возникновении признаков рецидива или после реализации репродуктивной функции.

Данные приведены в Таблице 2.3.

## 2.3 Методы исследования

Для решения поставленных задач (№ 1 - 6) при помощи клинических и специальных методов проспективно были изучены и сопоставлены диагностическая точность и прогностическая значимость онкомаркеров, липидов, метаболитов, микроРНК в составе экзосом крови и индексов.

### 2.3.1 Клинико-лабораторные и инструментальные методы исследования

**Клиническое исследование:** сбор жалоб, подробное ознакомление с анамнезом жизни и развития заболевания у пациентов, внесение полученной информации в электронную базу данных, проведение общего осмотра, расчет индекса массы тела (ИМТ), проведение гинекологического осмотра, оценка соответствия клинических показателей пациента критериям включения в исследование на основании данных анкетирования.

**Лабораторные методы:** выполнены анализы клинических и биохимических (в том числе, альбумин) показателей крови, а также изменений онкомаркеров эпителиальных и неэпителиальных опухолей яичников (СА 125, НЕ4, СА19-9, РЭА, ингибин В, АМГ, ЛДГ,  $\alpha$ -фетопротеин,  $\beta$ -ХГЧ) с последующим расчетом индексов ROMA и RMI. Для проведения исследований кровь получали натошак из локтевой вены с помощью закрытых систем для взятия крови «S-Monovette®» (Sarstedt, Германия) с активатором образования сгустка. Для анализа использовали сыворотку, полученную путем центрифугирования при 3000 об/мин не менее 10 минут на центрифуге Eppendorf 5804 (Германия). Центрифугирование проводили не позднее, чем через 1 час после взятия крови. При необходимости дополнительных исследований отбирали аликвоты образцов сыворотки крови и сохраняли их при  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Гормональные исследования. Определение концентрации СА 125 и НЕ4 выполнялось в сыворотке крови электрохемилюминесцентным методом на автоматическом иммунохимическом анализаторе «Cobas e411» (Roche Diagnostics GmbH, Германия) с использованием коммерческих наборов данного производителя.

Биохимические исследования. Определение уровня аполипопротеина и трансферрина производили в сыворотке крови турбидиметрическим методом на автоматическом анализаторе ВА-400 (Biosystems, Испания) с использованием реагентов этого же производителя.

При интерпретации отклонений в качестве референсных значений были приняты диапазоны, приведенные в Таблице 2.3.

Значения индекса ROMA у женщин репродуктивного возраста и периода пременопаузы  $\geq 11,4\%$  и у женщин в постменопаузе  $\geq 29,9\%$  интерпретировались как высокий риск обнаружения эпителиального ЗНО яичников.

Таблица 2.3 – Референсные значения маркеров и индексов

Маркер / индекс	Референсные значения показателей		
	Все возрастные категории	PВ	МПВ
СА 125, Ед/мл	0-35	-	-
HE 4, пмоль/л	-	0 - 60	0 - 120
ROMA	-	0 - 11,39	0 - 29,89
Трансферрин, мг/дл	200-360	-	-
Аполипопротеин А1, мг/дл	94-178	-	-

**Инструментальные методы:** ультразвуковое исследование органов малого таза, выполненное трансабдоминальным или трансректальным доступом, в качестве метода, позволяющего получить общие данные об образовании яичников, а также маточных труб, эндометрия, шейки матки, о наличии свободной жидкости в малом тазу; в качестве уточняющего метода диагностики (данные исследования не выполнялись пациентам группы контроля): МРТ органов малого таза для получения данных о характере образования (размеры, признаки злокачественного процесса, локализация и распространение) и других органов зоны диагностического интереса, маммография у пациентов 40 лет и старше и у пациентов до 40 лет группы высокого риска по развитию наследственного синдрома первично-множественных опухолей), МСКТ органов грудной клетки, гастро- и колоноскопия.

**Гистологическое и иммуногистохимическое исследования.** Макропрепараты удаленных образований яичников, полученные в результате хирургического вмешательства, доставлялись в патологоанатомическое отделение для последующего гистологического, ИГХ и цитологического исследований.

Определение экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестеронам, индекса пролиферативной активности (Ki-67) производилось ИГХ методом на гистологических срезах опухоли яичников. ИГХ диагностика проводилась на фиксированных формалином парафиновых срезах толщиной 4 мкм с использованием антител к рецепторам эстрогенов (ER, клон SP1, VENTANA), оценка производилась по положительному ядерному окрашиванию; к рецепторам прогестерона (PgR, клон 1E2, VENTANA), оценка производилась по положительному ядерному окрашиванию; к Ki-67 (клон MIB-1, VENTANA), оценка производилась по позитивному ядерному окрашиванию. Постановка реакции сопровождалась позитивным и негативным контролем. Оценка экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестеронам осуществлялась полуколичественным методом по шкале D.C. Allred в баллах [107], [160]. Выраженность экспрессии гормональных рецепторов произведена полуколичественным методом при помощи одновременной оценки количества окрашенных опухолевых клеток и интенсивности экспрессии следующим образом:

- интенсивность окрашивания опухолевых клеток, баллы: 0 – отсутствует, 1 – слабая, 2 – умеренная, 3 – выраженная;

- количество позитивных опухолевых клеток, баллы: 0 – окрашивания нет; 1 – при окрашивании менее 1% опухолевых клеток; 2 – при окрашивании 1–10% опухолевых клеток; 3 – при окрашивании 11–33%; 4 – при окрашивании 34–66%; 5 – при окрашивании 67–100% опухолевых клеток.

Баллы, рассчитанные по шкале Allred D.C., суммировались по количеству окрашенных клеток и интенсивности их окрашивания. Опухоли со значением от 0 до 2 баллов расценивались как гормонально–негативные, от 3 до 8 баллов – гормонально–позитивные.

Подсчет индекса пролиферативной активности опухолевых клеток (Ki-67) осуществлялся визуальным и автоматическим (с помощью программы ImmunoRatio, США) методами в 10-ти полях зрения при увеличении микроскопа  $\times 400$ . Индекс пролиферативной активности определялся как процент окрашенных клеточных ядер в опухолевой паренхиме.

### 2.3.2 Специальные методы исследования

#### Высокоэффективная жидкостная хроматографии с масс-спектрометрией

Одним из основных аналитических методов в липидомике является высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрической детекцией (ВЭЖХ-МС, англ. HPLC, High performance liquid chromatography), позволяющая производить молекулярный анализ проб (по отношению массы к заряду,  $m/z$ ). Современные методы анализа, такие как ВЭЖХ-МС, позволяют получать детальную информацию о молекулярном составе биологических образцов, что может быть использовано для выявления опухоли и для оценки степени ее злокачественности уже в предоперационном периоде. Особенностью метода является использование хроматографических и спектрометрических методов анализа образцов совместно со статистической и биоинформационной обработкой экспериментальных данных. В процессе хроматографического анализа выполняется разделение компонентов смеси, которые впоследствии анализируются в масс-спектрометре, в результате чего определяется липидный профиль.

В исследование были включены 289 пациентов (Таблица 2.4).

Таблица 2.4 – Структура диагнозов пациентов, включенных в исследование

Группа	Количество, пациенты	%
Контроль	20	8,8
Цистаденома	32	10,8
Эндометриоидная киста	58	19,7
Тератома	23	7,8
Пограничная опухоль	30	10,2
Рак яичников low grade	16	5,4
Рак яичников high grade	110	37,3
<b>Всего</b>	<b>289</b>	<b>100,0</b>

Сбор образцов венозной крови в пробирки осуществляется непосредственно перед операцией до введения антибактериальных, обезболивающих и прочих препаратов. Забранная кровь транспортируется в лабораторию в течение 30 минут и центрифугируется при регламентированных для плазмы и сыворотки крови условиях. После центрифугирования полученная фракция крови разливается в пробирки по 0,5 мл. Все пробирки маркируются. Промаркированные пробирки замораживаются при температуре - 80° С и могут храниться до двух лет.

Условия пробоподготовки плазмы крови:

- a) Кровь центрифугируется при условиях: скорость время и температура центрифугирования 300 g (g – единица относительного центробежного ускорения, гравитационная постоянная, равная 980 м/с<sup>2</sup>), 20 мин при 4°С.
- b) После центрифугирования плазма отбирается и центрифугируется при условиях: скорость время и температура центрифугирования 12000 g, 10 мин при комнатной температуре.
- c) После центрифугирования полученная плазма крови разливается в пробирки по 0,5 мл. Все пробирки маркируются.
- d) Допустимое время, в течение которого должна быть произведена обработка и закладка на хранение материалов, 30 минут.
- e) Промаркированные пробирки замораживаются при температуре - 80°С.

Условия пробоподготовки сыворотки крови:

- a) Кровь центрифугируется при 300 g при температуре 4°С в течение 20 минут.
- b) После центрифугирования надосадочная жидкость отбирается и центрифугируется 10 минут при 12000 g при комнатной температуре
- c) Полученная сыворотка крови разливается в пробирки по 0,5 мл. Все пробирки маркируются.
- d) Допустимое время, в течение которого должна быть произведена обработка и закладка на хранение материалов, 30 минут.
- e) Промаркированные пробирки замораживаются при температуре - 80°С.

Непосредственно в условиях лаборатории экстракты липидов получали в соответствии с модифицированным методом Фолча [96]. К 40 мкл сыворотки или плазмы крови добавляли смесь хлороформа и метанола в соотношении 2/1 (MeOH – метиловый спирт, CHCl<sub>3</sub> – хлороформ) и выдерживали в ультразвуковой ванне. Далее выполняли центрифугирование сыворотки или плазмы при комнатной температуре. Нижний органический слой (~100 мкл) переносили в отдельную виалу. К оставшейся смеси добавляется 250 мкл CHCl<sub>3</sub>/MeOH (1/1), повторно

выполняли центрифугирование. Нижний органический слой (~100 мкл) переносили к отобранному ранее органическому слою (Рисунок 2.1).

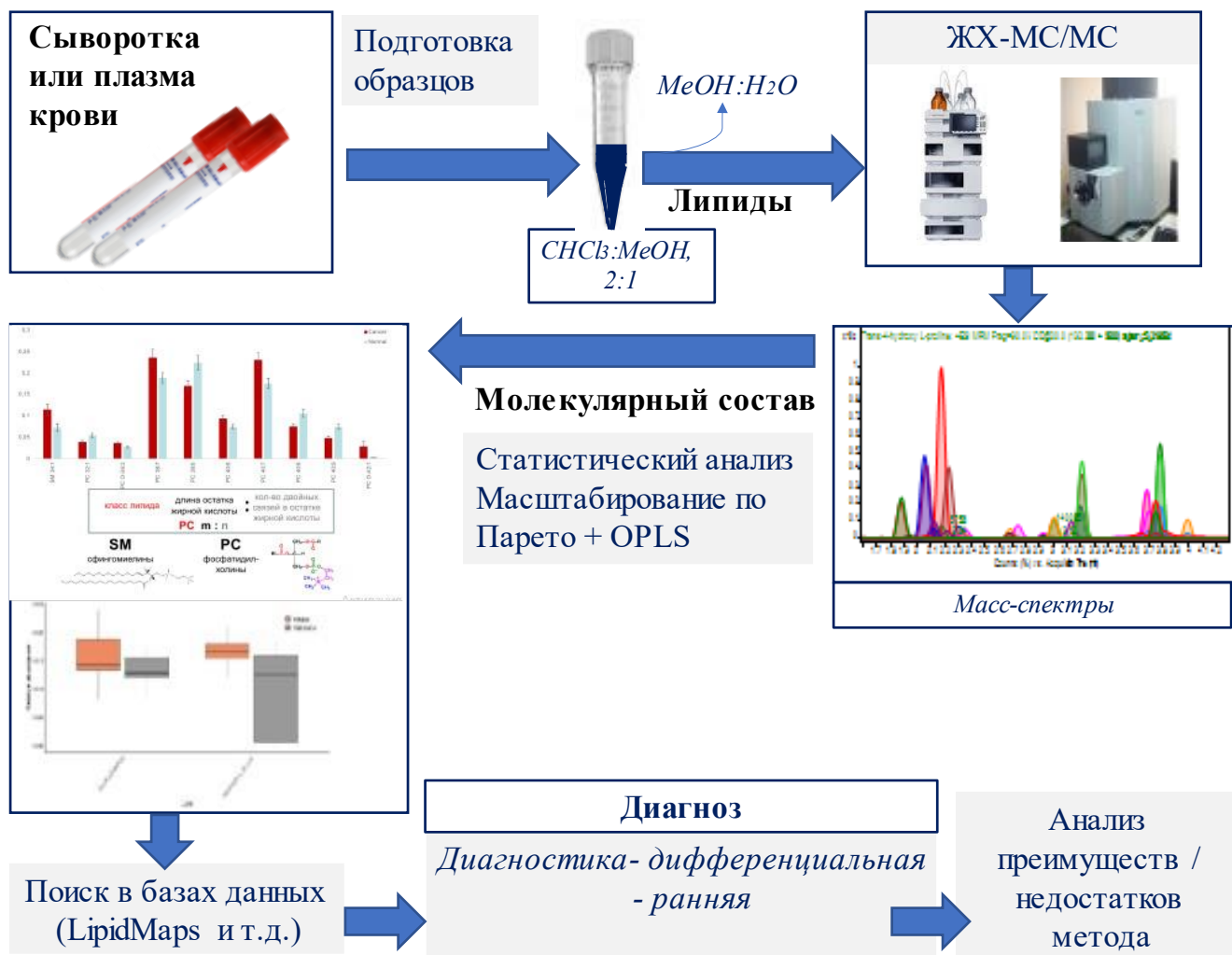


Рисунок 2.1 - Получение масс-спектров высокого разрешения образцов крови пациентов для последующего построения классификационной модели.

Содержимое виалы высушивали под потоком азота и растворяли в 200 мкл изопропанолола и ацетонитрила (1/1). Анализ липидных экстрактов проводился на жидкостном хроматографе Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Германия), соединённом с масс-анализатором Maxis Impact qTOF с ЭРИ источником ионов (Bruker Daltonics, Германия). Разделение образцов осуществлялось методом обращенно-фазовой хроматографии на колонке Zorbax C18 (150 x 2,1 мм, 5 мкм, Agilent, США) с линейным градиентом от 30% до 90% элюента В (раствор ацетонитрил/изопропанол/вода, в качестве элюента А использовали раствор ацетонитрил/вода с добавлением к обоим элюентам 0,1% муравьиной кислоты и 10 ммоль/л формиата аммония. Скорость потока элюирования была 40 мкл/мин, объем инжестируемого образца – 3 мкл. Масс-спектры получали в режиме положительных и отрицательных ионов в диапазоне  $m/z$  100-1700 со следующими установками: напряжение на капилляре 4,1 киловольт

(кВ) для режима положительных ионов (РПИ) и 3.0 кВ для режима отрицательных ионов (РОИ), давление распыляющего газа 0,7 бар, скорость потока осушающего газа 6 л/мин, температура осушающего газа 200° С. Для идентификации липидов выполняли тандемную масс-спектрометрию в режиме зависимого сканирования с шириной окна 5 дальтон (Да). Разделение полученных экстрактов было выполнено с помощью обращенно-фазовой жидкостной хроматографии и получении масс-спектров высокого разрешения методом ионизации распыления в электрическом поле (electrospray ionization, ESI) на коммерческом масс-спектрометре с разрешением более 10000 и точностью определения массы не хуже, чем 5-10 ppm. Для предобработки хромато-масс-спектрометрических данных использовали распространяемые программы msConvert из Proteowizard 3.0.9987 для преобразования файлов в MzXml, содержащий информацию о масс-спектре в любой момент времени и ms2, содержащую информацию о спектре фрагментации иона в заданный момент времени, и MzMine для выделения пиков посредством алгоритма, предложенного Koelmel J.P. и соавт. [131], и создания таблицы, содержащей информацию о пике – массе иона, площади пика и времени выхода.

Для идентификации липидов использовалась программа LipidMatch [131], выполняющая идентификацию липидов по точной массе (0,01 Да) соответствующего иона и спектру фрагментации иона с массой, попадающего в заданное окно массы (3 Да) и заданную окрестность времени удерживания (0,5 мин). Сравнение уровней липидов, принадлежащих к различным клиническим группам, осуществлялось методом Манна-Уитни с порогом значимости 0,05.

Был проведен многофакторный анализ с помощью метода дискриминантного анализа ортогональных проекций на скрытые структуры (OPLS-DA) с предварительным масштабированием по Парето [240] выполнялось построение OPLS-модели на основании уровней статистически значимых липидов, рассчитывали оценочные параметры ( $R^2$  - показатель объема дисперсии данных,  $Q^2$  - коэффициент детерминации). OPLS-DA является модификацией метода главных компонент, разработанной для создания моделей с обучением. Анализ OPLS-DA был реализован с использованием библиотеки «ropls» [32].

Проведение многомерного анализа данных методом OPLS-DA сопровождалось группировкой пиков масс-спектра каждого образца крови с предварительным масштабированием по Парето, оценкой вариабельности их интенсивности, позволивших дифференцировать образцы при различных гистологических диагнозах. Затем проводилось построение статистической классификационной OPLS-DA модели с выделением нескольких (от двух до четырех) компонент, позволивших отличить кровь при одном заболевании от крови при другом или образца здорового пациента, оценку чувствительности и специфичности данной классификационной модели, ожидаемой точности классификации новых данных для определения диагностической ценности модели и степени ее соответствия гистологически верифицированному диагнозу.

Создание профилей, кластеризирующих образцы крови, возможно благодаря проведенному пилотному исследованию, в процессе которого было выполнено «обучение» оборудования и программ для дифференциации образцов крови с различными гистологически верифицированными патологиями (Рисунок 2.2).

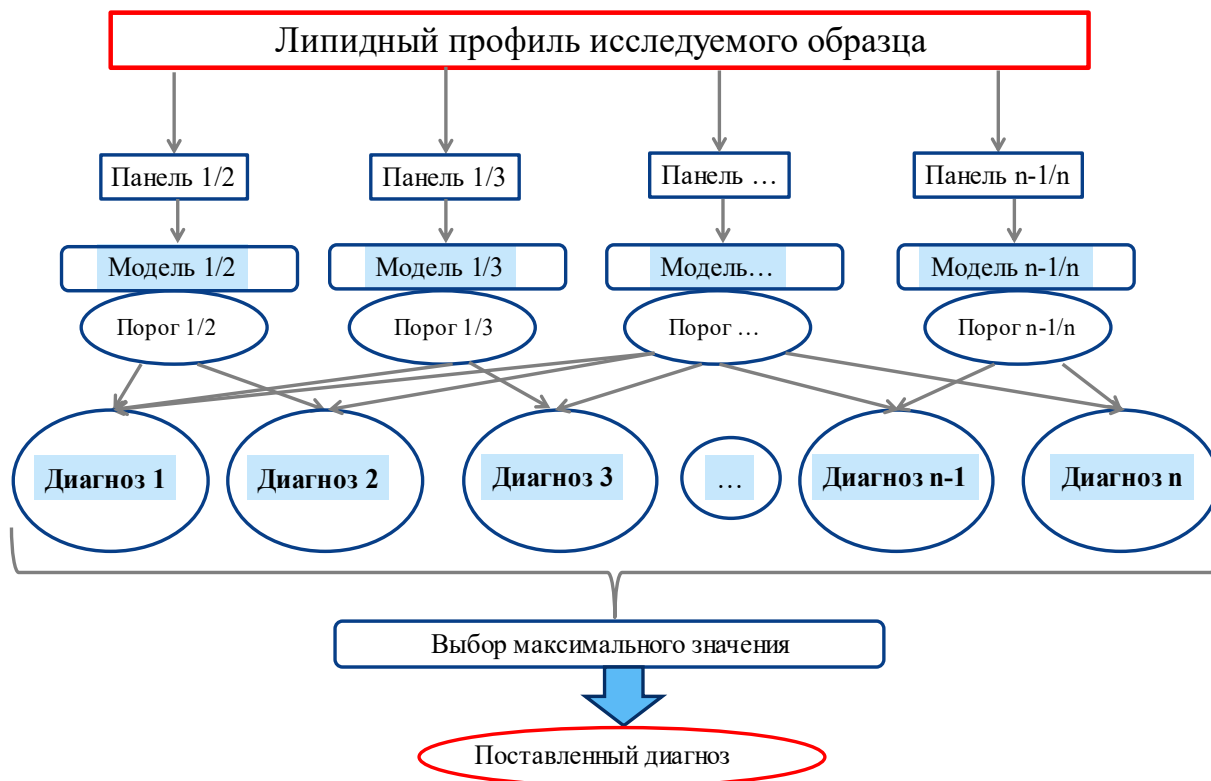


Рисунок 2.2 – Создание диагностических панелей на основании многоуровневого и многомерного сравнений липидных профилей образцов крови пациентов с ООВОЯ

С помощью OPLS-DA были созданы модели для классификации образцов по принадлежности к той или иной группе. В качестве независимых переменных в моделях рассматривали идентифицированные липиды. В качестве зависимой переменной выступала принадлежность пациентки к одной из исследуемых групп. Качество разработанных моделей определяли путем построения ROC-кривой, определения площади под ROC-кривой и расчета чувствительности и специфичности. Качество OPLS-DA моделей также оценивали по их способности описывать дисперсию анализируемых данных ( $R_2$ ) и прогнозировать возможные новые данные ( $Q_2$ ). Параметр  $Q_2$  рассчитывали путем 7-кратной кросс-валидации. При  $Q_2 \geq 0,4$  модель может быть использована для отнесения анализируемых образцов к той или иной клинической подгруппе. Кроме того, OPLS-DA использовали для выявления липидов, которые являются наиболее значимыми для классификации. Для этого был выполнен анализ влияния переменной на проекцию (variable influence on projection, VIP), который позволяет интерпретировать важность вклада изучаемых переменных для выявления компонентов (масс-спектрометрических пиков,  $m/z$ ), которые оказались наиболее существенными для создания

фенотипической классификации в исследовании. Идентификация этих компонентов в любой интересующий момент проведения исследования возможна в соответствии с их точными массами и спектрами. К потенциальным липидам-маркерам были отнесены липиды, у которых  $VIP > 1$  [253]. На Рисунке 2.2 показана общая схема от получения масс-спектров высокого разрешения образцов крови пациентов с известным гистологически верифицированным диагнозом и пациентов группы контроля до последующего статистического анализа полученных данных, разработки и использования классификационной модели. Сравнение уровней липидов в образцах крови пациентов, принадлежащих к различным клиническим группам, осуществлялось методом Манна-Уитни с поправкой Бенджамини–Хохберга с порогом значимости 0,05. Визуализацию результатов анализа осуществляли с помощью графиков рассеяния для большого массива данных (вулканная диаграмма), которые позволяют наглядно представить статистическую значимость и величины различия уровней липидов в группах, а также с помощью графика счетов для представления качества OPLS-DA моделей и их способности группировать образцы по анализируемым клиническим признакам. Точки на графиках рассеяния соответствуют отдельным липидам, по оси ординат откладывают значение отрицательного десятичного логарифма  $p$ -value с поправкой Бенджамини–Хохберга, а по оси абсцисс значение логарифма по основанию 2 от кратности изменения уровня соответствующего липида между группами ( $\log_2 FC$ ). Для описания уровней липидов в каждой группе использовались значения медианы, первого и третьего квартилей в виде: «Me (Q1; Q3)». Более подробное описание приведено в статье Токаревой А.О. и соавт. [63].

### Спектроскопия ядерного магнитного резонанса

С использованием химических веществ (Sigma-Aldrich, вода  $D_2O$  – Cortecnet, натриевая соль 3- (триметилсилил)пропионовой-2,2,3,3- $d_4$  кислоты – TSP; Cambridge Isotope Laboratories Inc.) были приготовлены два буферных раствора: раствор А - натрий-фосфатный буфер в  $H_2O/D_2O$  (80/20) с рН 7,4, содержащий 6,15 ммоль/л  $NaN_3$  и 4,64 ммоль/л TSP; раствор В - натрий-фосфатный буфер в  $D_2O$  (рН = 7,4), содержащий 1,5 моль/л  $K_2HPO_4$ , 2 ммоль/л  $NaN_3$  и 4 ммоль/л TSP. Были использованы 96-луночные планшеты Ritter Deepwell (Novaveth B.V.), пробирки для ЯМР-спектроскопии (Bruker Biospin Ltd.). Образцы плазмы размораживали при 4 °С и перемешивали, переворачивая пробирки 10 раз. Затем образцы (120 мкл) смешивали с 120 мкл буферного раствора. Для каждого образца 190 мкл смеси буфер-плазма переносили в 5-миллиметровые пробирки с использованием модифицированной станции наполнения пробирок Gilson 215 и выдерживали при 6 °С в устройстве для смены образцов.

$^1H$ -ЯМР анализ проводили на спектрометре Bruker 700 МГц AVANCE NEO, оснащенный 5-миллиметровой головкой криогенного зонда Prodigy. Устройство для смены образцов Bruker

SampleJet использовалось для подачи и извлечения образцов. Использовали два протокола ЯМР-спектроскопии, один для образцов плазмы и один для всех остальных образцов. Все эксперименты выполняли при 300 К, за исключением образцов плазмы, которые анализировали при 310 К. Свежий образец 99,8% метанола-d<sub>4</sub> использовали для калибровки температуры. Осевое шиммирование оптимизировалось автоматически перед каждым измерением. Продолжительность 90°-импульсов была автоматически откалибрована для каждого отдельного образца плазмы, также проводили эксперимент Перселла-Мейбума-Гилла (CPMG). Стандартная 1D последовательность импульсов CPMG с предварительным насыщением использовалась для получения T<sub>2</sub>-фильтрованных спектров. Была применена последовательность из 128 импульсов перефокусировки с задержкой отдельного спинового эха 0,6 мс, в результате чего общая задержка фильтрации T<sub>2</sub> составила 78 мс. После применения 4 фиктивных сканирований было собрано в общей сложности 73 728 точек данных, охватывающих спектральную ширину 12 019 Гц.

Идентификацию метаболитов проводили путем поиска по полным 1D и 2D данным JRES с использованием запатентованного кода Vbioefcode (Bruker Biospin Ltd.). Количественное определение метаболитов в образцах крови выполняли в полуавтоматическом режиме с помощью программного обеспечения Chenomx NMR Suite 9.0 (Chenomx Inc.). Результаты полуавтоматической количественной оценки были обработаны вручную. Концентрации рассчитывали на основании известной концентрации TSP (0,4 ммоль / л).

Все данные были проанализированы в программе R (<http://www.r-project.org/>, версии R 4.1.1, 4.1.2). Начальная обработка таблиц данных производилась с помощью пакетов tidyverse (версия 1.3.1) и readxl (1.3.1). Для визуализации результатов использовались ggplot2 (версия 3.3.5) и ggforestplot (версия 0.1.0). При проведении биоинформационного анализа использовались данные базы Metabolanalyst 5.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/>) с подключенной библиотекой путей и соединений KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes). При загрузке липидов в систему использовалась кодировка KEGG. Статистическая значимость метаболического пути определялась исходя из гипергеометрического теста с коррекцией по Бенджамини-Хохбергу. Вероятность влияния метаболического пути определялась оценкой вклада выявленных маркеров, вовлеченных в сигнальный путь, на основании данных топологического анализа и с учетом поправки средней доли ложных отклонений гипотез при проведении множественных сравнений (*false discovery rate, FDR*) менее 0,05.

### **Высокопроизводительное секвенирование нового поколения**

Для изучения пролиферативных заболеваний яичников в одномоментное (поперечное) исследование были включены пациенты с серозным РЯ высокой степени злокачественности III-IV стадий по классификации FIGO (n=7) и с эндометриодной кистой яичника (n=6) при

распространенном наружном генитальном эндометриозе III-IV стадий по классификации *rARSM* (*the revised American Society for Reproductive Investigation*). Диагноз был верифицирован гистологически. Для образцов крови пациентов исследуемых групп были подобраны образцы крови женщин сопоставимого постменопаузального (n=6, 65 (10) лет в группе контроля и 63 (5) года в группе пациентов с РЯ, p=0,59) и репродуктивного (n=5, 34 (2) года в группе контроля и 31 (1) год у пациентов с ЭКЯ, p=0,06) возраста, соответственно.

Критерии включения: информированное добровольное согласие на участие в исследовании, данные о сопутствующей экстрагенитальной патологии (в том числе острых инфекционно-воспалительных и аутоиммунных процессов), доброкачественных и злокачественных заболеваний любой локализации на момент включения в исследования и перенесенных ранее, фолликулярная (пролиферативная) фаза менструального цикла для женщин репродуктивного возраста, постменопауза для пациентов с РЯ и женщин, составивших их группу контроля, отсутствие приема гормональных препаратов; отсутствие заболеваний репродуктивных органов и экстрагенитальной патологии у наблюдаемых групп контроля исключено на основании данных анамнеза, УЗИ органов малого таза, клинического анализа крови и онкомаркеров СА 125 и HE4).

Условия пробоподготовки плазмы крови:

- a) Кровь в пробирках с ЭДТА транспортируется в лабораторию в течение 30 мин после забора в объеме 10 мл от каждого пациента, в 2 пробирках по 5 мл или 1 пробирке 10 мл.
- b) Кровь центрифугируется при условиях: 300 g, 20 мин при 4°C. Надосадок отбирают для дальнейшего выделения.
- c) Полученный надосадок центрифугируется при условиях: 3 000 g, 15 мин при 4°C.
- d) После центрифугирования полученная плазма крови делится на аликвоты по 1,5-2 мл (на 2-3 пробирки). Пробирки маркируются заранее или во время этапов центрифугирования.
- e) Промаркированные пробирки замораживаются при температуре - 80°C.

Для поиска потенциальных маркеров РЯ высокой степени злокачественности и ЭКЯ было произведено исследование представленности микроРНК в экзосомах различных групп пациентов методом высокопроизводительного секвенирования. Перед выделением РНК, плазму крови размораживали и центрифугировали 16 000 g, при 4°C. Экзосомальные РНК выделяли из 3 мл полученной после центрифугирования плазмы крови при помощи набора реагентов “ExoRNeasy Maxi kit” (Qiagen), и далее использовали для создания библиотек комплементарных ДНК малых РНК при помощи набора NEBNext® Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina, строго в соответствии с методикой производителя. Анализ микроРНК проводили методом высокопроизводительного секвенирования на платформе Illumina NextSeq, с использованием набора реагентов Illumina NextSeq 500/500 High Output Kit ver. 2,5 (75 cycles).

В результате секвенирования были получены прочтения нуклеотидных последовательностей для образцов, которые были картированы на базу данных miRbase v21 (miRbase.org) для идентификации зрелых микроРНК. Для нормализации данных и анализа дифференциальной экспрессии микроРНК, в группах, использовался алгоритм DESeq2 [140]. Для дальнейшего исследования были отобраны микроРНК с количеством прочтений  $\geq 10$ , учитывалась так же кратность изменений  $\geq 1.5$ . При отборе микроРНК статистически значимыми считались результаты при  $p_{adj} < 0.05$ , где  $p_{adj}$  – p-значение с учетом поправки FDR. Для отобранных микроРНК был выполнен поиск возможных мишеней в базе данных *MicroRNA-Target Interactions (miRTarBase* [157]), содержащей информацию более, чем о пятидесяти тысячах взаимодействий микроРНК с мишенями, данные о которых регулярно обновляются согласно систематическому анализу релевантных исследований. Были отобраны только те взаимодействия «микроРНК - ген», которые были выявлены одним или несколькими релевантными («сильными», по классификации авторов базы данных) методами: полимеразная цепная реакция в реальном времени (*qPCR*), Вестерн-блот (*WesternBlot*), методы высокопроизводительного репортерного анализа (*reporter assay kit*). Полученные списки потенциальных мишеней использовались для поиска сигнальных путей, регулируемых этими мишенями и, как следствие, изменяющих свою активность. Использовалась модель известных и прогнозируемых белок - белковых взаимодействий (база <https://string-db.org/>) и проводился анализ представленности генов-мишеней в различных сигнальных путях из базы данных WikiPathways (<https://www.wikipathways.org>). В результате «обогащения» сигнальных путей для каждой пары сравниваемых групп были отобраны те из них, которые продемонстрировали наибольшую статистическую значимость (XD-score, q-value), определяемую с помощью точного теста Фишера перекрывающихся с заданным списком мишеней. При выборе сигнальных путей использовалась поправка на тканеспецифичность, - были отобраны пути с наиболее высокими показателями представленности, свидетельствующими об активности при патологических процессах в яичниках.

### 2.3.3 Методы статистической обработки данных

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные

описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3). Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

Сравнение двух групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при неравных дисперсиях выполнялось с помощью t-критерия Уэлча. Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U-критерия Манна-Уитни. Сравнение трех и более групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела-Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна или с помощью парного t-критерия Стьюдента с поправкой Холма.

Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (при распределении показателей, отличном от нормального).

Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью точного критерия Фишера (при значениях ожидаемого явления менее 10). Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью критерия хи-квадрат Пирсона (при значениях ожидаемого явления более 10). Статистическая значимость изменений показателя в динамике оценивалась с помощью следа Пиллая (Pillai's Trace).

Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода, применялся метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определялось по наивысшему значению индекса Юдена. Построение прогностической модели вероятности определенного исхода выполнялось при помощи метода логистической регрессии. Мерой определенности, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть объяснена с помощью логистической регрессии, служил коэффициент  $R^2$  Найджелкерка.

Различия показателей считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Статистический анализ проводился с использованием программ *IBM SPSS Statistics* (v. 26) и *StatTech v. 2.4.8* (разработчик - ООО "Статтех", Россия).

В процессе ретроспективного исследования расчет объема выборки для оценки ВБП пациентов после полной и неполной циторедуктивных операций выполнялся по формуле Лера [130] исходя из заданных значений мощности исследования (80%), стандартизованной разницы (effect size = минимальная клин разность  $\delta$  / стандартное отклонение  $SD = 0.75$ ), уровне значимости ( $\alpha = 0,05$ ) и минимальной клинически значимой длительности при оценке показателей выживаемости, составляющей 6 мес., минимальный требуемый объем числа исследуемых составил по 29 пациентов в группах. В исследование было включено 54 пациента в

первую группу и 39 пациентов во вторую группу, соответственно. Исходя из количества пациентов в группах (33 пациента после интервальной и 77 пациентов после ПЦРО) при заданном уровне мощности исследования 95%, уровне значимости  $\alpha = 0,05$  и стандартном отклонении длительности ОВ, равном  $\pm 12$  мес., различия могли быть установлены, если разность средних значений составляла не менее 4,128 мес. (effect size 0,688 x 6 мес.).

На первом этапе произведен поиск факторов, статистически значимо ассоциированных с клиническими исходами. Для этого методом бинарной логистической регрессии был произведен анализ вероятности начала лечения с химиотерапии, вероятности выполнения операции с остаточной опухолью и вероятности рецидива заболевания после лечения. На основании полученных моделей также определены чувствительность, специфичность и прогностическая точность статистически значимых факторов.

Для анализа предикторной ценности на втором этапе проведен анализ выживаемости. Методом парной и множественной линейной регрессии с пошаговым отбором переменных посредством исключения незначимых факторов при помощи критерия Вальда был произведен анализ влияния факторов на длительность выживаемости без прогрессирования. Анализ длительности ВВП после двух вариантов лечения и после лечения с различными размерами остаточной опухоли проведен при помощи метода Каплана-Мейера (с применением лог-ранк критерия Мантеля-Кокса, получены медианы ВВП) и метода регрессии Кокса (определен риск рецидива заболевания после различных вариантов лечения в зависимости от количественных и категориальных факторов).

Для оценки качества проверяемого диагностического теста (кандидаты в маркеры серозной злокачественной опухоли яичников) было проведено сравнение его результатов с данными эталонного диагностического теста, который принято называть «золотым стандартом» (гистологическое исследование опухоли). Расчет показателей диагностической точности маркеров и тестов был произведен в соответствии со следующими формулами:

$$\text{Чувствительность} = a / (a + b) \times 100; \text{ специфичность} = c / (d + c) \times 100;$$

$$\text{ПЦ (+)} = \text{Чувствительность} / (\text{Чувствительность} + d) \times 100\%;$$

$$\text{ПЦ (-)} = c / (b + c) \times 100\%,$$

где:

- **a** = истинно-положительный, **b** = ложно-отрицательный, **c** = истинно-отрицательный, **d** = ложно-положительный.
- **ПЦ (+)** и **ПЦ (-)** - прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов (PVP и PVN – the predictive value for a positive / negative test), вероятность наличия заболевания при положительном (патологическом) / отрицательном (нормальном) результате.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1. Диагностическая точность методов исследования пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников

Поскольку решение о выборе тактики ведения пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников основывается на комплексном анализе данных клинической картины, анамнеза и инструментально-лабораторных методов диагностики проанализирована дифференциально-диагностическая точность интерпретации симптомов, данных УЗИ и маркерных исследований.

Пациенты исследуемых групп с опухолями и опухолевидными образованиями яичников, за исключением РЯ ВСЗ, незначимо различались по возрасту (Таблица 3.1). Пациенты с серозным РЯ ВСЗ значимо старше ( $Q_1 - Q_3 = 47 - 61$  год) пациентов других групп ( $p < 0,001$ , критерий Краскела–Уоллиса): у пациентов наиболее молодого возраста наблюдались зрелые тератомы ( $Q_1 - Q_3 = 33 - 39$  лет), серозные цистаденомы ( $Q_1 - Q_3 = 35 - 41$  год), эндометриоз с вовлечением яичника (-ов) ( $Q_1 - Q_3 = 35 - 41$  год), ПОЯ ( $Q_1 - Q_3 = 34 - 39$  лет) и РЯ НСЗ ( $Q_1 - Q_3 = 35 - 41$  год). Группу контроля составили 45 женщин репродуктивного возраста (РВ), а также 26 женщин периода менопаузального перехода и постменопаузального возраста (МПВ). Пациенты исследуемых групп были сопоставимы по ИМТ ( $p=0,319$ , критерий Краскела–Уоллиса).

Таблица 3.1 – Возраст и ИМТ пациентов исследуемых групп

Диагноз	Возраст, лет			p	ИМТ, кг/м <sup>2</sup>			p
	Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	n		Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	n	
<b>группа контроля</b>	40	38 – 44	71	p все группы, кроме РЯ ВСЗ – РВ = 0,2, p все группы – РЯ ВСЗ < 0,001, p РЯ ВСЗ – МПВ = 0,196	26	24 – 27	71	p все группы, кроме РЯ ВСЗ – РВ = 0,134, p все группы, кроме РЯ ВСЗ – РВ = 0,319, p РЯ ВСЗ – МПВ = 0,188
репродуктивный возраст	39	38 – 41	45		26	24 – 27	45	
период менопаузального перехода и постменопаузальный возраст	66	62 – 67	26		22	21 – 25	26	
<b>серозная цистаденома</b>	37	35 – 41	32		26	23 – 28	32	
<b>эндометриоидная киста</b>	38	35 – 41	58		24	21 – 26	58	
<b>зрелая тератома</b>	36	33 – 39	23		23	22 – 28	23	
<b>пограничная опухоль</b>	37	34 – 39	30		25	23 – 26	30	
<b>РЯ НСЗ</b>	38	35 – 41	16		25	23 – 25	16	
<b>РЯ ВСЗ</b>								
I-II стадии	47	46 – 59	10		24	21 – 27	10	
III-IV стадии	54	49 – 61	53	25	23 – 28	53		

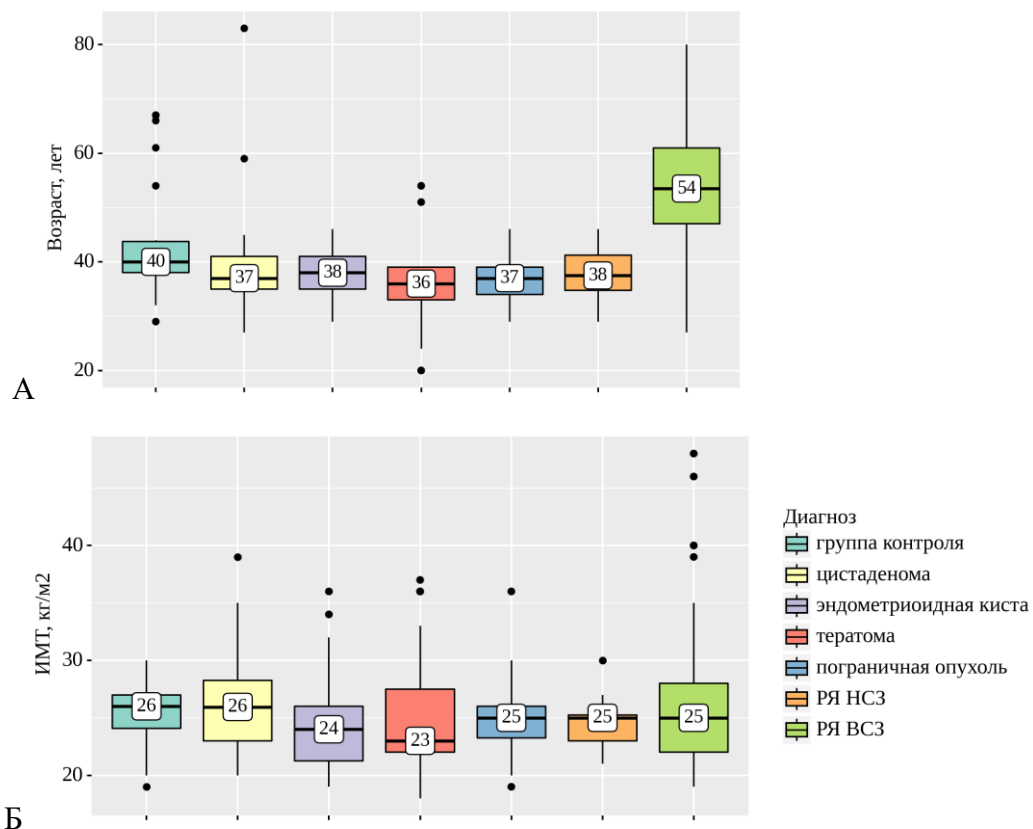


Рисунок 3.1 – А) Возраст (лет) и ИМТ (кг/м<sup>2</sup>) пациентов исследуемых групп

### Анализ жалоб пациентов, послуживших поводом для обращения

Наиболее распространенной жалобой пациентов были нерегулярные или постоянные боли тянущего или колющего характера, локализованные в эпигастрии, поясничной области или в нижних отделах живота. Болевой синдром был отмечен у 19 (32,76 %) пациентов с эндометриозом, 12 (37,5 %) пациентов с серозной цистаденомой, у 14 (60,87 %) пациентов с зрелой тератомой, у 8 (26,67 %) с ПОЯ, у 5 (31,25 %) пациентов с РЯ НСЗ, у 24 (38,1 %) пациентов с РЯ ВСЗ (у 3 (30 %) пациентов с I-II стадиями, у 21 (36,21 %) пациентов с III-IV стадиями).

Пациенты с ООВОЯ предъявляли жалобы на нарушение менструального цикла (нерегулярные, болезненные или обильные менструации, наличие межменструальных или мажущих кровянистых выделений, предшествующих менструации или после нее), распределение в группах было следующим: 17 (29,31 %) пациентов с эндометриозом, 4 (12,5 %) пациента с цистаденомой, 3 (13,04 %) пациента с зрелой тератомой, 12 (40 %) пациентов с ПОЯ, 4 (25%) пациентов с РЯ НСЗ, 4 (6,9 %) с РЯ ВСЗ предъявляли жалобы. 19 (32,76 %) пациентов с эндометриозом, одного (3,13 %) пациента с цистаденомой, 2 (6,67 %) пациентов с ПОЯ, 4 (25 %) пациентов с РЯ НСЗ и одного (1,59 %) пациента с РЯ ВСЗ (III стадия, 1,72 %) беспокоило отсутствие наступления беременности в течение года и более при регулярной половой жизни без контрацепции.

Астенический синдром (слабость, быстрая утомляемость) был отмечен у 2 (8,7 %) пациентов с зрелой тератомой, 2 (6,67 %) с ПОЯ, 4 (6,35 %) пациентов с РЯ ВСЗ (у 1 (10%) пациента с ПА стадией, у 3 (5,17 %) пациентов с III-IV стадиями).

У 2 (6,25 %) пациентов с серозной цистаденомой, 2 (6,67 %) с ПОЯ, 1 (6,25 %) пациента с РЯ НСЗ, 8 (12,7 %) пациентов с РЯ ВСЗ были отмечены жалобы на увеличение живота в объеме (1 (10%) пациент с ПВ стадией, 7 (12,08 %) пациентов с III-IV стадиями). 11 (17,46 %) пациентов с III-IV стадиями РЯ ВСЗ отметили изменение аппетита, появление ощущения тяжести или тошноты после приемов пищи. Пациенты с другими ООВОЯ жалоб на проявления диспепсии не предъявляли.

Таблица 3.2 – Перечень симптомов, послуживших поводом для обращения в медицинское учреждение, пациентов с ООВОЯ

Ключевая жалоба (повод обращения)	Боль (кроме альгодисменореи)		Повышенная утомляемость, слабость		Увеличение живота в объеме		Диспепсия	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
<b>Диагноз</b>	<b>Абс.</b>	<b>%</b>	<b>Абс.</b>	<b>%</b>	<b>Абс.</b>	<b>%</b>	<b>Абс.</b>	<b>%</b>
ЭКЯ	19	<b>32,76</b>	0	<b>0</b>	0	<b>0</b>	0	<b>0</b>
цистаденома	12	<b>37,5</b>	0	<b>0</b>	2	<b>6,25</b>	0	<b>0</b>
тератома	14	<b>60,87</b>	2	<b>8,7</b>	0	<b>0</b>	0	<b>0</b>
ПОЯ	8	<b>26,67</b>	2	<b>6,67</b>	2	<b>6,67</b>	0	<b>0</b>
РЯ НСЗ	5	<b>31,25</b>	0	<b>0</b>	1	<b>6,25</b>	0	<b>0</b>
РЯ ВСЗ, I-II стадии	3	<b>30</b>	1	<b>10</b>	1	<b>10</b>	0	<b>0</b>
РЯ ВСЗ, III-IV стадии	21	<b>36,21</b>	3	<b>5,17</b>	7	<b>12,08</b>	11	<b>17,46</b>
<b>Всего</b>	<b>82</b>	<b>36,94</b>	<b>8</b>	<b>3,6</b>	<b>13</b>	<b>5,86</b>	<b>11</b>	<b>4,95</b>
Ключевая жалоба (повод обращения)	Бесплодие		Нарушение менструального цикла		Жалобы отсутствуют (данные диспансеризации)			
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%		
<b>Диагноз</b>	<b>Абс.</b>	<b>%</b>	<b>Абс.</b>	<b>%</b>	<b>Абс.</b>	<b>%</b>		
ЭКЯ	19	<b>32,76</b>	17	<b>29,31</b>	3	<b>5,17</b>		
цистаденома	1	<b>3,13</b>	4	<b>12,5</b>	13	<b>40,63</b>		
тератома	0	<b>0</b>	3	<b>13,04</b>	4	<b>17,39</b>		
ПОЯ	2	<b>6,67</b>	12	<b>40</b>	4	<b>13,33</b>		
РЯ НСЗ	4	<b>25</b>	4	<b>25</b>	2	<b>12,5</b>		
РЯ ВСЗ, I-II стадии	0	<b>0</b>	0	<b>0</b>	5	<b>50</b>		
РЯ ВСЗ, III-IV стадии	1	<b>1,72</b>	4	<b>6,9</b>	16	<b>27,59</b>		
<b>Всего</b>	<b>27</b>	<b>12,16</b>	<b>44</b>	<b>19,82</b>	<b>47</b>	<b>21,17</b>		

У 3 (5,17 %) пациентов с эндометриозом не было субъективных симптомов заболевания, кистозное образование было обнаружено при диспансерном обследовании, в связи с чем пациенты самостоятельно обратились или были направлены на консультацию для рассмотрения показаний к хирургическому лечению. Аналогично пациентам с ЭКЯ, 13 (40,63 %) пациентов с серозной цистаденомой, 4 (17,39 %) пациентов с зрелой тератомой, 4 (13,3 %) пациентов с ПОЯ, 2 (12,5 %) пациентов с РЯ НСЗ, 20 (31,75 %) и 21 (33,33 %) пациентов с III-IV стадиями РЯ ВСЗ (5 (50%) при I-II стадиях и 16 (27,59 %) при III-IV стадиях заболевания) не предъявляли жалоб на момент консультации, обратились с данными инструментальной диагностики или были

направлены специалистами других медицинских учреждений. Первичным поводом для обращения к специалистам других лечебно-профилактических учреждений (терапевт, гинеколог, гастроэнтеролог, колопроктолог) были: диспансерное обследование, подготовка к протоколам применения вспомогательных репродуктивных технологий, а также болевой синдром, диспепсия, астенический синдром, нарушение менструального цикла, бесплодие. В связи с подозрением на ООВОЯ пациенты были направлены к специалистам НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова. Дальнейший дифференциально-диагностический поиск включал анализ уровней маркеров крови, а также применение методов визуальной диагностики.

### Исследование содержания онкомаркеров в крови

Были установлены статистически значимые различия содержания маркеров СА 125 и НЕ4 в крови, а также значений ROMA и RMI ( $p < 0,001$ , *Критерий Краскела–Уоллиса*, Таблица 3.3).

Таблица 3.3 – Показатели маркеров СА 125, НЕ4, алгоритма ROMA и индекса RMI при ООВОЯ

Диагноз	СА 125, Ед/мл			p	НЕ4, пмоль/л			p	
	Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	n		Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	n		
группа контроля	14	12 – 16	71	< 0,001 <sup>1</sup>	14	8 – 18	71	< 0,001 <sup>2</sup>	
РВ	14	10 – 22	45		14	8 – 14	45		
МПВ	12	10 – 14	26		12	7 – 10	26		
цистаденома	18	17 – 18	32		79	76 – 82	32		
ЭКЯ	364	362 – 364	58		114	110 – 119	58		
тератома	58	22 – 58	23		117	112 – 124	23		
ПОЯ	45	9 – 56	30		71	55 – 71	30		
РЯ НСЗ	273	67 – 528	16		165	145 – 189	16		
РЯ ВСЗ									
I-II стадии	107	53 – 136	10		629	400 – 829	10		
III-IV стадии	372	129 – 1244	53	519	240 – 519	53			
Диагноз	ROMA			p	RMI, баллы			p	
	Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	n		Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	n		
группа контроля	0	0,5 – 0,8	71	< 0,001 <sup>3</sup>	14	12 – 14	71	< 0,001 <sup>4</sup>	
РВ	1	0,8 – 1	45		14	12 – 14	45		
МПВ	0	0,6 – 0,8	26		10	10 – 10	26		
цистаденома	20	20 – 20	32		18	18 – 19	32		
ЭКЯ	41	41 – 41	58		364	142 – 528	58		
тератома	38	33 – 38	23		58	22 – 58	23		
ПОЯ	16	9 – 17	30		45	9 – 56	30		
РЯ НСЗ	62	60 – 64	16		291	142 – 528	16		
РЯ ВСЗ									
I-II стадии	84	83 – 84	10		276	158 – 1011	10		
III-IV стадии	84	84 – 93	53	3600	1170 – 6371	53			

Примечание: <sup>1</sup> -  $p$  РЯ НСЗ – тератома = 0,037,  $p$  РЯ ВСЗ, I-II стадии – контроль = 0,004; <sup>2</sup> -  $p$  цистаденома – группа контроля = 0,018,  $p$  РЯ НСЗ – цистаденома = 0,009,  $p$  ПОЯ – ЭКЯ = 0,002; <sup>3</sup> -  $p$  цистаденома – группа контроля = 0,017,  $p$  тератома – группа контроля = 0,005,  $p$  ЭКЯ – цистаденома = 0,035,  $p$  РЯ НСЗ – цистаденома = 0,012,  $p$  РЯ ВСЗ – РЯ НСЗ = 0,035; <sup>4</sup> -  $p$  РЯ НСЗ – цистаденома = 0,006,  $p$  тератома – ЭКЯ = 0,023,  $p$  РЯ НСЗ – ПОЯ = 0,013,  $p$  РЯ ВСЗ – РЯ НСЗ = 0,003

Значения показателей приведены в виде диаграмм размаха с отмеченными медианами на Рисунках 3.2 и 3.3.

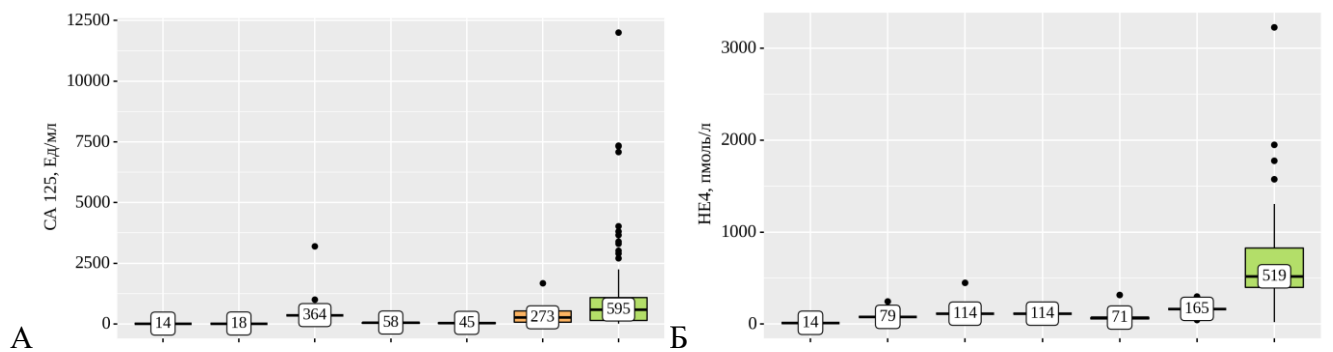
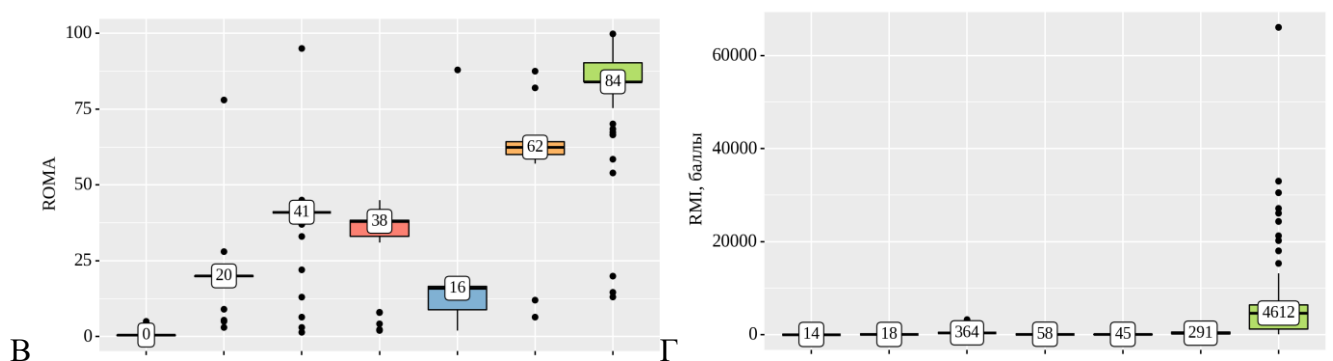


Рисунок 3.2 – Диаграммы размаха с указанием медиан значений маркеров при ООВОЯ: А) СА 125, Б) HE4



**Обозначение диагнозов:**

- группа контроля
- цистаденома
- эндометриоидная киста
- тератома
- пограничная опухоль
- РЯ НСЗ
- РЯ ВСЗ

Рисунок 3.3 – Диаграммы размаха с указанием медиан значений комплексных индексов при ООВОЯ: А) ROMA, Б) RMI

Повышение СА 125 при цистаденоме яичника было выявлено у 20 пациентов (62,5%), при эндометриоидной кисте – у 52 пациентов (92,86%), при тератоме – у 14 пациентов (60,87%). Повышение HE4 было выявлено при цистаденоме яичников у 2 пациентов (6,25%), при эндометриоидной кисте – у 4 пациентов (7,14%), при тератоме – у 1 пациента (4,35%). В группе контроля повышение СА 125 было выявлено у 1 пациента (1,41%), повышения HE4 зарегистрировано не было. У 5 пациентов было отмечено ложноположительное повышение ROMA при доброкачественных ООВОЯ (у 1 пациента при серозной цистаденоме, у 4 - при ЭКЯ), у 10 пациентов был зарегистрирован ложноотрицательный результат расчета индекса (9,17%, у 9 пациентов пременопаузального возраста с I-II стадиями (n=8) и III-IV стадиями РЯ ВСЗ (n=1) и у 1 пациента постменопаузального возраста с III-IV стадией РЯ ВСЗ). У части пациентов с РЯ ВСЗ не было отмечено повышения маркеров на предоперационном этапе: СА 125 был в пределе

референсных значений у 6 пациентов (7,94%; 2 пациента с I-II стадиями РЯ, 4 пациента с III-IV стадиями РЯ), НЕ4 был в пределах референсных значений у 5 пациентов постменопаузального возраста с III-IV стадиями заболевания (7,94%). При РЯ НСЗ отсутствие повышения СА 125 наблюдалось у 2 пациентов (12,5%), и у 2 пациентов (12,5%) не было отмечено повышения НЕ4. При ПОЯ у 9 пациентов в пределах референсных значений были маркеры: СА 125 (30%), у 29 – НЕ4 (96,67%, у 68,97% значения НЕ4 находились на верхней границе нормы: 69-70 пмоль/л).

Показатели чувствительности, специфичности, а также предиктивная ценность положительного (ПЦ «+») и отрицательного (ПЦ «-») результатов определения маркеров для выявления ООВОЯ приведены в Таблице 3.4.

Таблица 3.4 – Диагностическая точность определения маркеров крови для дифференциальной диагностики ЗНО и ДОЯ

Маркер	Чувствительность, %	Специфичность, %	ПЦ «+», %	ПЦ «-», %
СА 125, Ед/мл	85,9	<b>39,29</b>	66,34	66,67
НЕ4, пмоль/л	89,94	<b>14,16</b>	59,58	50
ROMA	93,08	<b>52,88</b>	60,16	90,91

Для прогнозирования наличия ЗНО (ПОЯ, РЯ НСЗ, РЯ ВСЗ I-II стадий) среди всех пациентов (в том числе с цистаденомами, ЭКЯ и тератомами) проведен двухэтапный анализ диагностической ценности СА 125, НЕ4, ROMA и RMI. В результате применения метода логистической регрессии (отбор факторов методом отбора Вальда) было показано, что изменения СА 125 и RMI при ПОЯ и РЯ не достигли значимости, в связи с чем для дальнейшего анализа диагностической точности исследования маркеров при ПОЯ и ЗНО были отобраны НЕ4 и ROMA (Рисунок 3.4).

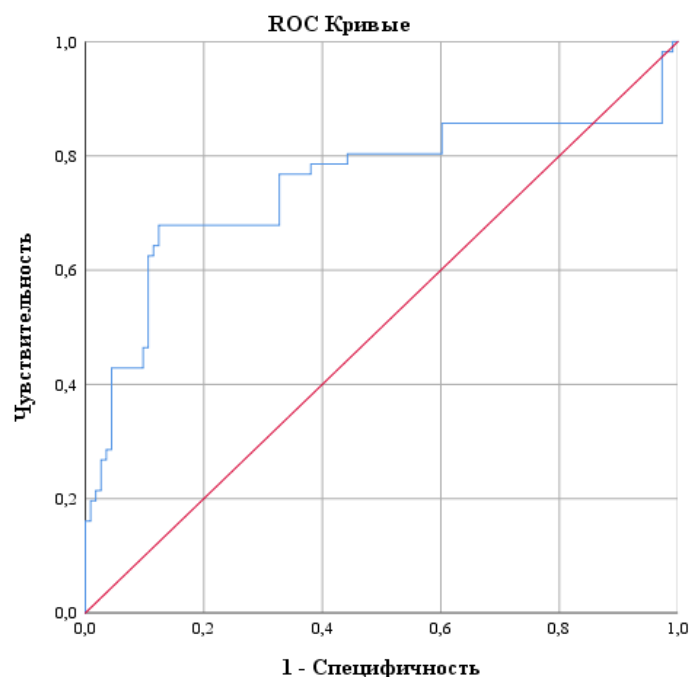


Рисунок 3.4 – ROC-кривая для диагностической точности определения ЗНО при помощи НЕ4 и ROMA (чувствительность модели для установленных пороговых значений составляет 76,8%, специфичность – 67,3%, AUC = 74,8 (p < 0,001))

Для выяснения диагностической точности изменений маркеров СА 125 и НЕ4, а также ROMA у пациентов с каждым из диагнозов из группы ЗНО (РЯ НСЗ, ПОЯ и РЯ ВСЗ ранних стадий) в дифференцировке перечисленных опухолей от доброкачественных ООВОЯ (цистаденома, ЭКЯ, тератома) при анализе истинно- и ложно- положительных и отрицательных значений определены чувствительность, специфичность и прогностическая значимость маркеров и ROMA. Данные представлены в Таблице 3.5.

Таблица 3.5 – Показатели диагностической точности маркеров СА 125, НЕ 4 и ROMA при ООВОЯ

Маркер	Чувствительность, %	Специфичность, %	ПЦ «+», %	ПЦ «-», %
	<b>РЯ НСЗ</b>			
СА 125, Ед/мл	93,75	<b>30,58</b>	9,49	98,44
НЕ4, пмоль/л	93,75	<b>14,42</b>	7,77	96,77
ROMA	93,75	<b>12,74</b>	7,5	96,43
<b>I-II стадии РЯ ВСЗ</b>				
СА 125, Ед/мл	80	<b>29,72</b>	5,1	96,92
НЕ4, пмоль/л	100	<b>10,29</b>	5,18	100
ROMA	100	<b>11,21</b>	5	100
<b>Пограничные опухоли</b>				
СА 125, Ед/мл	53,33	<b>25</b>	10,19	77,05
НЕ4, пмоль/л	73,33	<b>11,86</b>	11,4	74,19
ROMA	100	<b>11</b>	14,42	100

Показано, что специфичность определения маркеров (СА 125 и НЕ4) остается низкой, даже при расчете алгоритма, основанного на учете изменений обоих маркеров (ROMA). В связи с ограничениями диагностической точности перечисленных показателей необходимы дополнительные исследования для возможности дифференцировать доброкачественные ООВОЯ от ЗНО

У пациентов с серозным РЯ ВСЗ (high grade) помимо СА 125 также были проанализированы концентрации аполипопротеина А1 и трансферрина (Таблица 3.6).

Таблица 3.6 – Значения медиан маркеров у пациентов с РЯ ВСЗ и наблюдаемых группы контроля (используемые методы: <sup>1</sup> - *t*-критерий Уэлча, <sup>2</sup> - *U*-критерий Манна-Уитни).

Маркеры	Группа	Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	p
Трансферрин, мг/дл	Группа контроля	263	251 – 274	< 0,001 <sup>1</sup>
	РЯ ВСЗ	189	161 – 218	
Аполипопротеин А1, мг/дл	Группа контроля	212	186 – 239	0,687 <sup>2</sup>
	РЯ ВСЗ	201	139 – 269	
СА 125, Ед/мл	Группа контроля	14	11 – 17	< 0,001 <sup>2</sup>
	РЯ ВСЗ	295	41 – 685	

У пациентов с РЯ ВСЗ отмечено снижение трансферрина и аполипопротеина А1, а также повышение СА 125. Статистически значимые различия в группах были определены для содержания трансферрина и СА 125.

Показатели диагностической точности определения СА 125, аполипопротеина и трансферрина крови для выявления РЯ ВСЗ приведены в Таблице 3.7.

Таблица 3.7 – Показатели диагностической точности определения маркеров при РЯ ВСЗ

Маркер	Se, %	Sp, %	ПЦ «+», %	ПЦ «-», %
СА 125, Ед/мл	76,19	95	88,89	88,37
Аполипопротеин А1, мг/дл	90	97,5	94,74	95,12
Трансферрин, мг/дл	90,48	62,5	55,88	92,59

Методом бинарной логистической регрессии была разработана прогностическая модель для определения вероятности наличия у пациента РЯ ВСЗ (значение «Р») в зависимости от значений маркеров, различие которых у пациентов было статистически значимым (СА 125, трансферрин). Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%, \text{ где } z = 2,049 - 0,035 X_{\text{Трансферрин}} + 0,193 X_{\text{СА 125}}.$$

Пример клинического расчета для пациента Г. (Рак яичников ШВ стадии, значение трансферрина составило 266 мг/дл, повышение СА 125 – 295 Ед/мл):  
 $z = 2,049 - 0,035 \times 266 + 0,193 \times 295 = 2,049 - 9,3 + 56,9 = 49,6$ ,  
 $P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\% = 1 / 1 \times 100\% \approx 100\%$ , - вероятность наличия у пациента РЯ приближена к 100%.

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ( $p < 0,001$ ). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель объясняет 88,1% наблюдаемой дисперсии наличия заболевания. Исходя из значений регрессионных коэффициентов, была установлена прямая связь СА 125 и обратная связь трансферрина с вероятностью выявления РЯ ВСЗ (Таблица 3.8, Рисунок 3.5).

Таблица 3.8 – Характеристика связи отобранных предикторов с вероятностью выявления РЯ ВСЗ

Предикторы	«Грубый» показатель ОШ; 95% ДИ	р	«Скорректированный» показатель ОШ; 95% ДИ	р
Трансферрин	0,970; 0,953 – 0,986	< 0,001	0,966; 0,934 – 0,999	0,046
СА 125	1,172; 1,062 – 1,293	0,002	1,213; 1,062 – 1,385	0,005

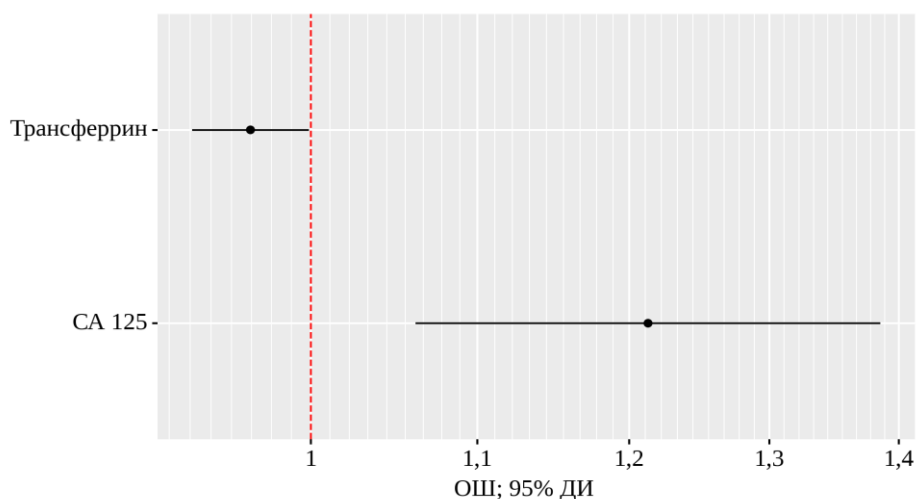


Рисунок 3.5 – Оценка отношения шансов с 95% ДИ для изучаемых предикторов выявления РЯ ВСЗ

При оценке зависимости вероятности наличия РЯ ВСЗ от значения логистической функции Р с помощью ROC-анализа была получена следующая кривая (Рисунок 3.6).

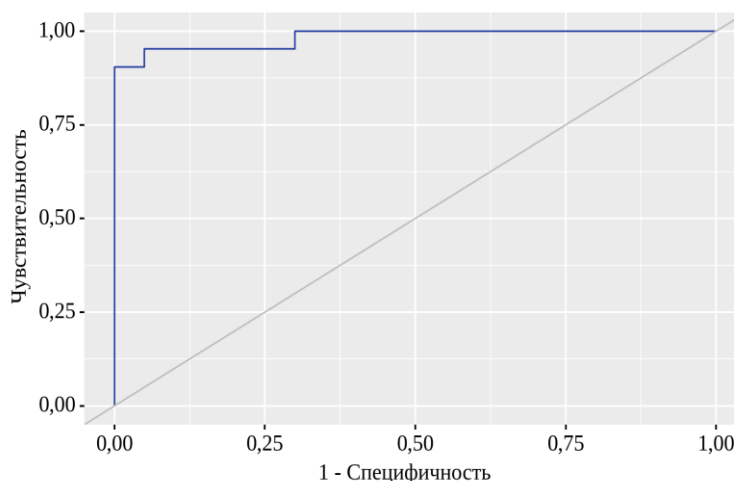


Рисунок 3.6 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности наличия РЯ ВСЗ от значения логистической функции Р

Площадь под ROC-кривой составила  $0,983 \pm 0,02$  с 95% ДИ: 0,944 – 1,0. Полученная модель была статистически значимой ( $p < 0,001$ ). Пороговое значение логистической функции Р в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,344. Наличие РЯ ВСЗ прогнозировалось при значении логистической функции Р выше данной величины или равном ей. Чувствительность и специфичность модели составили 95,2% и 95,0%, соответственно.

Определение изменений СА 125 и трансферрина при РЯ ВСЗ позволяет с высокой точностью дифференцировать пациентов от группы контроля.

### Ультразвуковое исследование органов малого таза

При сравнении данных протокола УЗИ органов малого таза пациентов с ООВОЯ в 89,19% было установлено соответствие заключения УЗИ гистологическому диагнозу, в 10,81% - отмечено расхождение данных (Таблица 3.9).

Таблица 3.9 - Расхождение заключения УЗИ и гистологического диагноза у пациентов с тератомой, ПОЯ и РЯ

Заключение УЗИ	Фактический диагноз	n, пациентов	Расхождение, %
ПОЯ	РЯ	4	6,35
простая цистаденома	ПОЯ	8	26,67
РЯ	тератома	4	17,39
РЯ	ПОЯ	6	20
простая цистаденома	РЯ	2	3,17

Расхождение данных УЗИ органов малого таза и гистологического заключения сопряжено с рисками некорректного планирования и выполнения оперативного вмешательства в

неадекватном объеме (36,19% в чрезмерном или 37,39% в недостаточном), а также риском упущенных случаев (3,17% РЯ, 26,67% ПОЯ).

Показатели чувствительности, специфичности УЗИ органов малого таза, выполненного врачом-экспертом пациентам с доброкачественными, пограничными и злокачественными ООВОЯ, приведены в Таблице 3.10.

Таблица 3.10 – Показатели диагностической точности УЗИ органов малого таза, выполненного экспертом, в дифференциальной диагностике ООВОЯ

Группа образований	Чувствительность, %	Специфичность, %
Серозная цистаденома	91,67	85,16
ЭКЯ	92,04	87,96
Зрелая тератома	85,63	79,6
ПОЯ	<b>40,26</b>	<b>50</b>
РЯ НСЗ	86,95	<b>51,77</b>
РЯ ВСЗ I-II стадии	<b>74,85</b>	<b>18,5</b>
РЯ ВСЗ III-IV стадии	96,15	89,69

На основании данных УЗИ были рассчитаны индекс RMI (Таблица 3.8), а также показатели модели ADNEX (Таблица 3.9). Расчет RMI для пациентов приведен в Таблице 3.1 и на диаграммах размаха (Рисунок 3.1). Было показано, что несмотря на статистически значимые различия значений показателя в группах расчет RMI для дифференциальной диагностики ранних стадий РЯ ВСЗ, РЯ НСЗ и ПОЯ сопровождается низкими показателями чувствительности, специфичности и прогностической ценности (Таблица 3.11).

Таблица 3.11 – Дискриминантные характеристики повышения RMI для дифференциальной диагностики опухолей яичников

Заболевание	Чувствительность, %	Специфичность, %	ПЦ «+», %	ПЦ «-», %
РЯ ВСЗ I-II стадий	60	64,15	9,52	96,23
РЯ НСЗ	56,25	64,71	14,29	93,4
ПОЯ	3,33	55,4	1,59	72,64

В Таблице 3.12 приведены значения пациент-специфического (ПСР) и относительного (ОР) рисков показателей модели ADNEX для пациентов исследуемых групп.

Таблица 3.12 – Значения ПСР и ОР модели ADNEX у пациентов исследуемых групп

Показатели	Диагноз	Значение показателя		p
		Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	
Вероятность доброкачественного характера процесса, ПСР, %	РПВ	99	99 – 99	$< 0,001$ (p поя – мпв = 0,006 p ря нсз – цистаденома = 0,008 p ря всз – цистаденома = 0,002 p ря нсз – экя = 0,017 p ря всз III-IV ст – экя = 0,003 p ря нсз – тератома = 0,017)
	МПВ	99	98 – 99	
	цистаденома	94	86 – 97	
	ЭКЯ	93	92 – 93	
	тератома	92	81 – 95	
	ПОЯ	44	34 – 55	
	РЯ НСЗ	5	3 – 10	
	РЯ ВСЗ, I-II стадии	12	7 – 35	
РЯ ВСЗ, III-IV стадии	3	1 – 6		

Продолжение Таблицы 3.12

Показатели	Диагноз	Значение показателя		p
		Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	
Вероятность злокачественного характера процесса, ПСР, %	РПВ	1	1 – 1	$< 0,001$ (p поя – мпв = 0,004 p ря нс3 – цистаденома = 0,011 p ря нс3 – экя = 0,022 p ря нс3 – тератома = 0,022 p ря вс3 I-II ст – мпв = 0,017 p ря вс3 III-IV ст – экя = 0,004 p ря вс3 III-IV ст – тератома = 0,004)
	МПВ	1	1 – 2	
	цистаденома	6	3 – 14	
	ЭКЯ	7	7 – 8	
	тератома	8	5 – 19	
	ПОЯ	56	45 – 76	
	РЯ НСЗ	95	90 – 97	
	РЯ ВСЗ, I-II стадии	88	65 – 93	
РЯ ВСЗ, III-IV стадии	97	94 – 99		
Пограничная опухоль, ПСР, %	РПВ	1	1 – 1	$< 0,001$ (p поя – цистаденома = 0,041 p поя – экя = 0,020 p поя – тератома = 0,041 p ря вс3 III-IV ст – поя = 0,049)
	МПВ	1	0 – 1	
	цистаденома	4	2 – 12	
	ЭКЯ	4	4 – 4	
	тератома	4	3 – 8	
	ПОЯ	41	26 – 49	
	РЯ НСЗ	38	14 – 59	
	РЯ ВСЗ, I-II стадии	64	47 – 72	
РЯ ВСЗ, III-IV стадии	5	2 – 8		
I стадия, ПСР, %	РПВ	0	0 – 0	$< 0,001$ (p тератома – рпв = 0,014 p ря нс3 – цистаденома = 0,015 p ря вс3 I-II ст – цистаденома = 0,032)
	МПВ	0	0 – 0	
	цистаденома	1	0 – 2	
	ЭКЯ	1	1 – 1	
	тератома	2	1 – 7	
	ПОЯ	5	5 – 8	
	РЯ НСЗ	8	6 – 8	
РЯ ВСЗ, I-II стадии	6	4 – 11		
II-IV стадии, ПСР, %	РПВ	0	0 – 0	$< 0,001$ (p ря вс3 I-II ст – рв = 0,003 p экя – рв = 0,024 p тератома – рв = 0,024 p ря вс3 III-IV ст – экя = 0,008 p ря вс3 III-IV ст – тератома = 0,006)
	МПВ	0	0 – 0	
	цистаденома	0	0 – 0	
	ЭКЯ	1	1 – 1	
	тератома	1	0 – 3	
	ПОЯ	2	2 – 8	
	РЯ НСЗ	35	22 – 46	
	РЯ ВСЗ, I-II стадии	3	3 – 11	
РЯ ВСЗ, III-IV стадии	76	60 – 86		
Вторичное поражение, ПСР, %	РПВ	0	0 – 0	$< 0,001$ (p ря вс3 I-II ст – рв = 0,002 p ря вс3 I-II ст – мпв = 0,039 p поя – мпв = 0,005 p поя – цистаденома = 0,048 p ря нс3 – цистаденома = 0,003 p ря вс3 I-II ст – экя = 0,021 p ря вс3 III-IV ст – тератома = 0,022)
	МПВ	0	0 – 0	
	цистаденома	0	0 – 0	
	ЭКЯ	1	1 – 1	
	тератома	0	0 – 1	
	ПОЯ	1	1 – 4	
	РЯ НСЗ	5	5 – 6	
	РЯ ВСЗ, I-II стадии	2	2 – 4	
РЯ ВСЗ, III-IV стадии	7	6 – 12		

Продолжение Таблицы 3.12

Показатели	Диагноз	Значение показателя		p
		Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	
Вероятность доброкачественного характера процесса, ОР	РПВ	2	2 – 2	$< 0,001$ (p поя – мпв = 0,006 p ря всз I-II ст – мпв = 0,019 p ря нсз – цистаденома = 0,009 p ря нсз – экя = 0,003 p ря нсз – тератома = 0,011 p ря всз III-IV ст – цистаденома = 0,002 p ря всз III-IV ст – тератома = 0,002)
	МПВ	2	1 – 2	
	цистаденома	1	1 – 1	
	ЭКЯ	1	1 – 1	
	тератома	1	1 – 1	
	ПОЯ	1	0 – 1	
	РЯ НСЗ	0	0 – 0	
	РЯ ВСЗ, I-II стадии	0	0 – 0	
Вероятность злокачественного характера процесса, ОР	РПВ	0	0 – 0	$< 0,001$ (p ря всз I-II ст – мпв = 0,007 p поя – мпв = 0,003 p ря нсз – цистаденома = 0,005 p ря нсз – экя = 0,007 p ря нсз – тератома = 0,022 p ря всз III-IV ст – тератома = 0,005)
	МПВ	0	0 – 0	
	цистаденома	0	0 – 0	
	ЭКЯ	0	0 – 0	
	тератома	0	0 – 1	
	ПОЯ	2	1 – 2	
	РЯ НСЗ	3	3 – 3	
	РЯ ВСЗ, I-II стадии	3	2 – 3	
РЯ ВСЗ, III-IV стадии	3	3 – 3		
Пограничная опухоль, ОР	РПВ	0	0 – 0	$< 0,001$ (p поя – цистаденома = 0,042 p поя – экя = 0,014 p поя – тератома = 0,042 p ря всз I-II ст – экя = 0,04)
	МПВ	0	0 – 0	
	цистаденома	1	0 – 2	
	ЭКЯ	1	1 – 1	
	тератома	1	0 – 1	
	ПОЯ	6	4 – 8	
	РЯ НСЗ	6	2 – 9	
	РЯ ВСЗ, I-II стадии	10	7 – 11	
РЯ ВСЗ, III-IV стадии	1	0 – 2		
I стадия, ОР	РПВ	0	0 – 0	$< 0,001$ (p тератома – рв = 0,032 p ря нсз – цистаденома = 0,017 p ря всз I-II ст – экя = 0,031)
	МПВ	0	0 – 0	
	цистаденома	0	0 – 0	
	ЭКЯ	0	0 – 0	
	тератома	0	0 – 1	
	ПОЯ	1	1 – 1	
	РЯ НСЗ	1	1 – 1	
	РЯ ВСЗ, I-II стадии	1	1 – 1	
РЯ ВСЗ, III-IV стадии	1	0 – 1		
II-IV стадии, ОР	РПВ	0	0 – 0	$< 0,001$ (p поя – рв = 0,042 p ря нсз – тератома = 0,005 p ря всз I-II ст – рв = 0,033 p ря всз III-IV ст – экя = 0,011)
	МПВ	0	0 – 0	
	цистаденома	0	0 – 0	
	ЭКЯ	0	0 – 0	
	тератома	0	0 – 0	
	ПОЯ	0	0 – 1	
	РЯ НСЗ	2	2 – 3	
	РЯ ВСЗ, I-II стадии	0	0 – 1	
РЯ ВСЗ, III-IV стадии	5	4 – 6		

Продолжение Таблицы 3.12

Показатели	Диагноз	Значение показателя		p
		Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	
Вторичное поражение, ОР	РПВ	0	0 – 0	$< 0,001$ (p поя – мпв = 0,010 p ря нсз – цистаденома = 0,005 p ря нсз – эжя = 0,019 p ря нсз – тератома = 0,024 p ря всз III-IV ст – эжя = 0,006 p ря всз III-IV ст – тератома = 0,007)
	МПВ	0	0 – 0	
	цистаденома	0	0 – 0	
	ЭЖЯ	0	0 – 0	
	тератома	0	0 – 0	
	ПОЯ	0	0 – 1	
	РЯ НСЗ	1	1 – 2	
	РЯ ВСЗ, I-II стадии	1	0 – 1	
РЯ ВСЗ, III-IV стадии	2	1 – 3		

На основании отобранных статистически значимых для дифференциальной диагностики показателей модели ADNEX методом бинарной логистической регрессии была разработана прогностическая модель для определения вероятности наличия злокачественного процесса (РЯ НСЗ, ПОЯ или РЯ ВСЗ). Наблюдаемая зависимость описывается уравнением 3.1:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%, \quad (3.1)$$

$$z = -0,005 - 1,003 X_1 + 0,499 X_2 + 3,401 X_3 - 6,441 X_4 - 0,052 X_5 + 3,968 X_6 + 0,000 X_7 - 0,086 X_8 + 0,549 X_9 - 0,932 X_{10} + 2,701 X_{11} + 4,419 X_{12},$$

где P – вероятность наличия злокачественного процесса, X<sub>1</sub> – вероятность доброкачественного характера процесса, ПСР, X<sub>2</sub> – вероятность злокачественного характера процесса, ПСР, X<sub>3</sub> – пограничная опухоль, ПСР, X<sub>4</sub> – I стадия, ПСР, X<sub>5</sub> – II-IV стадии, ПСР, X<sub>6</sub> – вторичное поражение, ПСР, X<sub>7</sub> – вероятность доброкачественного характера процесса, ОР, X<sub>8</sub> – вероятность злокачественного характера процесса, ОР, X<sub>9</sub> – пограничная опухоль, ОР, X<sub>10</sub> – I стадия, ОР, X<sub>11</sub> – II-IV стадии, ОР, X<sub>12</sub> – вторичное поражение, ОР.

Полученная регрессионная модель является статистически значимой (p < 0,001). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель объясняет 93,9% наблюдаемой дисперсии наличия злокачественного процесса в изученных группах.

Исходя из значений регрессионных коэффициентов, была установлена прямая связь вероятности злокачественного процесса от следующих показателей модели ADNEX: "Вероятность злокачественного характера процесса, ПСР", "Пограничная опухоль, ПСР", "Вторичное поражение, ПСР", "Вероятность доброкачественного характера процесса, ОР", "Пограничная опухоль, ОР", "II-IV стадии, ОР", "Вторичное поражение, ОР", а также обратная связь для таких показателей как: "Вероятность доброкачественного характера процесса, ПСР", "I стадия, ПСР", "II-IV стадии, ПСР", "Вероятность злокачественного характера процесса, ОР", "I стадия, ОР" (Таблица 3.13).

Таблица 3.13 – Характеристики связи показателей модели с вероятностью выявления ЗНО яичников

Показатели	ОШ; 95% ДИ	p
Вероятность доброкачественного характера процесса, ПСР, %	0,786; 0,637 – 0,969	0,024
Вероятность злокачественного характера процесса, ПСР, %	1,269; 1,028 – 1,567	0,026
Пограничная опухоль, ПСР, %	1,176; 1,077 – 1,284	< 0,001
I стадия, ПСР, %	1,802; 1,418 – 2,291	< 0,001
II-IV стадии, ПСР, %	1,283; 1,095 – 1,502	0,002
Вторичное поражение, ПСР, %	3,102; 1,804 – 5,333	< 0,001
Вероятность доброкачественного характера процесса, ОР	0; 0 – 0,559	0,043
Вероятность злокачественного характера процесса, ОР	129,2; 3,995 – 418,7	0,015
Пограничная опухоль, ОР	2,978; 1,659 – 5,349	< 0,001
I стадия, ОР	82,789; 13,681 – 500,7	< 0,001
II-IV стадии, ОР	128,625; 3,747 – 441,6	0,007
Вторичное поражение, ОР	573,065; 18,120 – 181,2	< 0,001

При оценке зависимости вероятности наличия у пациента злокачественного процесса от значения логистической функции Р с помощью ROC-анализа была получена ROC-кривая, площадь под которой составила  $0,996 \pm 0,007$  с 95% ДИ: 0,982 – 1,0 (Рисунок 3.6). Полученная модель была статистически значимой ( $p < 0,001$ ). Пороговое значение логистической функции Р в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 0,633, - при значении логистической функции Р выше данной величины или равном ей прогнозировалось наличие ПОЯ или РЯ. Чувствительность и специфичность модели составили 97,3% и 98,0%, соответственно (Рисунок 3.7).

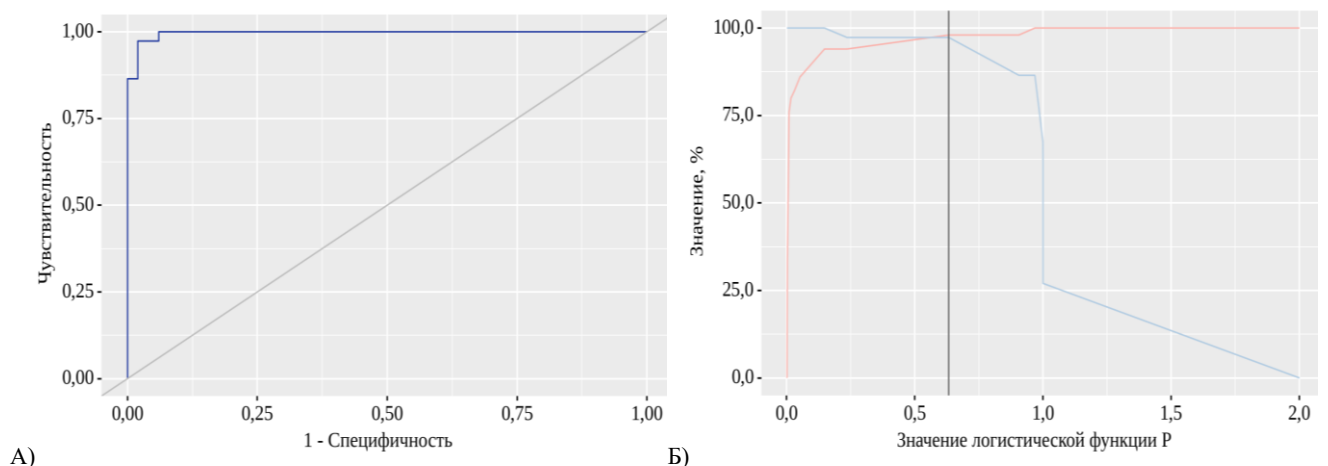


Рисунок 3.7 – А) ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности наличия у пациента злокачественного процесса от значения логистической функции Р. Б) Анализ чувствительности (оранжевая кривая) и специфичности (голубая кривая) модели в зависимости от пороговых значений логистической функции Р

Диагностическая значимость показателей модели ADNEX при прогнозировании характера образования яичников была оценена при помощи ROC-кривых для каждой исследуемой клинической группы пациентов.

Чувствительность и специфичность построенных ROC-кривых указаны для порогового значения, при величине равном или превышающем которое прогнозировалось отсутствие ООВОЯ у наблюдаемых репродуктивного (РВ) и перименопаузального возраста (МПВ). Статистически значимыми для прогнозирования отсутствия ООВОЯ у наблюдаемых группы контроля оказались все проанализированные модели (Таблица 3.14). Наибольшие значения площади под ROC-кривой, чувствительности и специфичности были отмечены для модели, построенной на основании значений показателя «Вероятность доброкачественного характера процесса (ПСР и ОР)», ( $AUC > 0,95$ ,  $Se = 100$ ,  $Sp > 77$ ,  $p < 0,05$ ).

Таблица 3.14 - Зависимость вероятности отсутствия ООВОЯ у наблюдаемых репродуктивного и перименопаузального возраста ООВОЯ от значений показателей модели ADNEX

Показатели модели ADNEX	AUC	SD	p	95% ДИ		ПЗ, %	Se, %	Sp, %
				нижняя граница	верхняя граница			
Вероятность доброкачественного характера процесса, ПСР, %	<b>0,98</b>	0,01	<b>&lt; 0,001</b>	0,95	1	98,95	<b>100</b>	<b>77</b>
Вероятность злокачественного характера процесса, ПСР, %	0,02	0,01	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0</b>	0,05	0,9	90	1,3
Пограничная опухоль, ПСР, %	0,1	0,03	<b>&lt; 0,001</b>	0,04	0,17	0,75	90	6,6
I стадия, ПСР, %	0,06	0,03	<b>&lt; 0,001</b>	0,01	0,11	0,15	0	11,8
II-IV стадии, ПСР, %	0,02	0,02	<b>&lt; 0,001</b>	0	0,05	0,05	20	100
Вторичное поражение, ПСР, %	0,05	0,02	<b>&lt; 0,001</b>	0	0,09	0,15	0	10,5
Вероятность доброкачественного характера процесса, ОР	<b>0,95</b>	0,02	<b>&lt; 0,001</b>	0,91	0,99	1,45	<b>100</b>	<b>98,1</b>
Вероятность злокачественного характера процесса, ОР	0,05	0,02	<b>&lt; 0,001</b>	0,004	0,09	-	-	-
Пограничная опухоль, ОР	0,06	0,03	<b>&lt; 0,001</b>	0,01	0,11	0,05	100	0,02
I стадия, ОР	0,07	0,03	<b>&lt; 0,001</b>	0,018	0,13	-	-	-
II-IV стадии, ОР	0,17	0,05	<b>0,001</b>	0,08	0,26	0,05	20	100
Вторичное поражение, ОР	0,05	0,02	<b>&lt; 0,001</b>	0,007	0,09	0,15	0	10,5

Примечание: SD – стандартное отклонение.

Статистически значимыми для прогнозирования отсутствия ООВОЯ у наблюдаемых постменопаузального возраста оказались все проанализированные модели (Таблица 3.15).

Таблица 3.15 - Зависимость вероятности отсутствия ООВОЯ у наблюдаемых постменопаузального возраста от значений показателей модели ADNEX

Показатели модели ADNEX	AUC	SD	p	95% ДИ		ПЗ, %	Se, %	Sp, %
				нижняя граница	верхняя граница			
Вероятность доброкачественного характера процесса, ПСР, %	<b>0,82</b>	0,05	<b>0,02</b>	0,71	0,92	98,3	<b>88,9</b>	<b>84,4</b>
Вероятность злокачественного характера процесса, ПСР, %	0,18	0,05	<b>0,02</b>	0,08	0,29	1,05	88,9	14,3
Пограничная опухоль, ПСР, %	0,14	0,07	<b>&lt; 0,001</b>	0	0,28	0,75	66,7	3,9

Продолжение Таблицы 3.15

Показатели модели ADNEX	AUC	SD	p	95% ДИ		ПЗ, %	Se, %	Sp, %
				нижняя граница	верхняя граница			
I стадия, ПСР, %	0,12	0,05	< 0,001	0,02	0,22	-	-	-
II-IV стадии, ПСР, %	0,21	0,07	<b>0,005</b>	0,08	0,34	6,8	11,1	67,2
Вторичное поражение, ПСР, %	0,18	0,07	<b>0,002</b>	0,05	0,31	0,15	44,4	16,9
Вероятность доброкачественного характера процесса, ОР	<b>0,81</b>	0,06	<b>0,001</b>	0,69	0,93	1,35	<b>88,9</b>	<b>60,1</b>
Вероятность злокачественного характера процесса, ОР	0,16	0,06	<b>0,002</b>	0,05	0,27	0,05	44,4	15,6
Пограничная опухоль, ОР	0,19	0,07	<b>0,002</b>	0,05	0,32	0,15	44,4	16,9
I стадия, ОР	0,13	0,05	< 0,001	0,03	0,23	0,4	11,1	49,1
II-IV стадии, ОР	0,24	0,07	<b>0,01</b>	0,09	0,37	0,45	11,1	66,2
Вторичное поражение, ОР	0,22	0,07	<b>0,006</b>	0,08	0,36	0,55	11,1	42,3

Чувствительность и специфичность построенных ROC-кривых указаны для порогового значения, при величине равном или превышающем которое прогнозировалось отсутствие у них ООВОЯ. Наибольшие значения площади под ROC-кривой, чувствительности и специфичности были отмечены для модели, построенной на основании значений показателя «Вероятность доброкачественного характера процесса (ПСР и ОР)» ( $AUC > 0,8$ ,  $Se > 88\%$ ,  $Sp > 60\%$ ,  $p < 0,05$ ).

Статистически значимыми для прогнозирования наличия серозной цистаденомы оказались 3 модели, построенные на основании показателей ADNEX (Таблица 3.16, Рисунок 3.8).

Таблица 3.16 - Зависимость вероятности наличия у пациента серозной цистаденомы от значений показателей модели ADNEX

Показатели модели ADNEX	AUC	SD	p	95% ДИ		ПЗ, %	Se, %	Sp, %
				нижняя граница	верхняя граница			
Вероятность доброкачественного характера процесса, ПСР, %	0,66	0,06	0,1	0,55	0,77	81,1	90	53,9
Вероятность злокачественного характера процесса, ПСР, %	0,34	0,06	0,1	0,23	0,45	6,1	50	42
Пограничная опухоль, ПСР, %	0,45	0,07	0,6	0,31	0,58	4,15	50	46,1
I стадия, ПСР, %	0,35	0,06	0,09	0,23	0,44	1,15	50	33
II-IV стадии, ПСР, %	0,25	0,05	<b>0,01</b>	0,15	0,34	0,25	50	27
Вторичное поражение, ПСР, %	0,28	0,05	<b>0,02</b>	0,17	0,38	0,3	60	37,6
Вероятность доброкачественного характера процесса, ОР	0,64	0,06	0,14	0,53	0,75	1,35	70	59,2
Вероятность злокачественного характера процесса, ОР	0,33	0,06	0,09	0,22	0,44	0,15	60	26
Пограничная опухоль, ОР	0,44	0,07	0,54	0,31	0,57	55	50	44,7
I стадия, ОР	0,35	0,06	0,09	0,22	0,45	0,15	50	33
II-IV стадии, ОР	0,20	0,05	<b>0,002</b>	0,09	0,31	0,05	10	35,5
Вторичное поражение, ОР	0,31	0,06	0,06	0,21	0,42	0,15	10	42,1

Однако значения площади под ROC-кривой, показатели чувствительности и специфичности не достигли статически значимого уровня (Таблица 3.16). Чувствительность и специфичность построенных ROC-кривых указаны для порогового значения, при величине равном или превышающем которое прогнозировался максимальный риск наличия серозной цистаденомы (Рисунок 3.8).

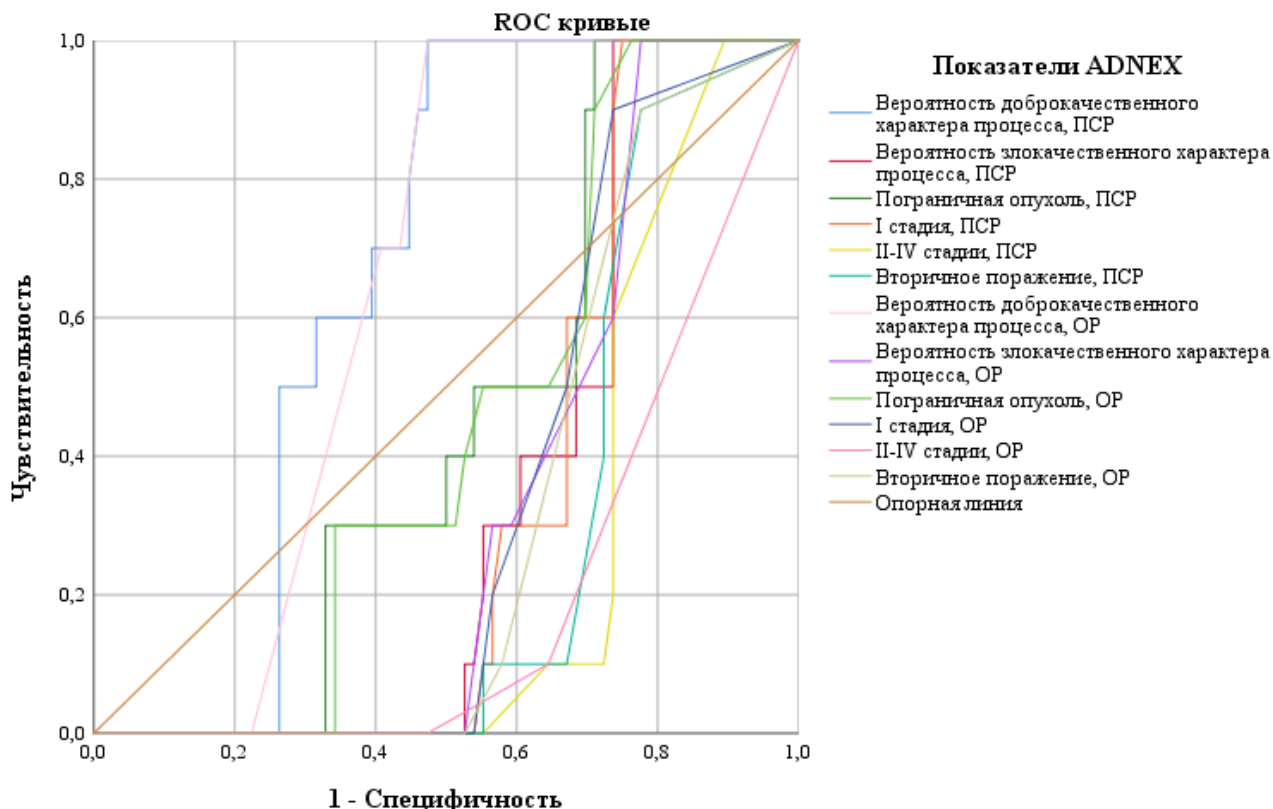


Рисунок 3.8 – ROC-кривые, характеризующие зависимость вероятности наличия у пациента серозной цистаденомы от значений показателей модели ADNEX

Также не было показано статистической значимости ни для одной из моделей, построенных при помощи ROC-анализа, для прогнозирования наличия у пациента ЭКЯ или зрелой тератомы.

При анализе прогностической значимости показателей модели ADNEX статистически значимыми для выявления ПОЯ оказались 10 из 12 построенных моделей (Таблица 3.17).

Таблица 3.17 - Зависимость вероятности наличия у пациента ПОЯ от значений показателей модели ADNEX

Показатели модели ADNEX	AUC	SD	p	95% ДИ		ПЗ, %	Se, %	Sp, %
				нижняя граница	верхняя граница			
Вероятность доброкачественного характера процесса, ПСР, %	0,31	0,05	0,04	0,21	0,41	42,9	72,7	30,7
Вероятность злокачественного характера процесса, ПСР, %	0,72	0,06	<b>0,02</b>	0,61	0,82	54,5	63,6	66,7
Пограничная опухоль, ПСР, %	<b>0,88</b>	0,04	<b>&lt; 0,001</b>	0,81	0,95	15,6	<b>100</b>	<b>81,3</b>
I стадия, ПСР, %	<b>0,73</b>	0,05	<b>0,02</b>	0,62	0,83	4,2	<b>100</b>	64

Продолжение Таблицы 3.17

Показатели модели ADNEX	AUC	SD	p	95% ДИ		ПЗ, %	Se, %	Sp, %
				нижняя граница	верхняя граница			
II-IV стадии, ПСР, %	0,61	0,06	0,24	0,49	0,73	1,65	54,5	57,3
Вторичное поражение, ПСР, %	0,69	0,06	<b>0,04</b>	0,59	0,81	1,15	81,8	71,3
Вероятность доброкачественного характера процесса, ОР	0,31	0,05	<b>0,04</b>	0,21	0,41	0,65	45,5	40,7
Вероятность злокачественного характера процесса, ОР	0,69	0,05	<b>0,05</b>	0,58	0,79	1,3	81,8	75,3
Пограничная опухоль, ОР	<b>0,87</b>	0,04	<b>&lt; 0,001</b>	0,800	0,945	2,45	<b>100</b>	<b>80</b>
I стадия, ОР	<b>0,73</b>	0,05	<b>0,05</b>	0,624	0,834	0,55	<b>100</b>	64
II-IV стадии, ОР	0,58	0,07	0,4	0,448	0,708	0,05	90,9	46,7
Вторичное поражение, ОР	<b>0,70</b>	0,06	<b>0,03</b>	0,591	0,817	0,4	<b>100</b>	61,3

Чувствительность и специфичность построенных ROC-кривых указаны для порогового значения, при величине равном или превышающем которое прогнозировался максимальный риск наличия ПОЯ (Рисунок 3.9).

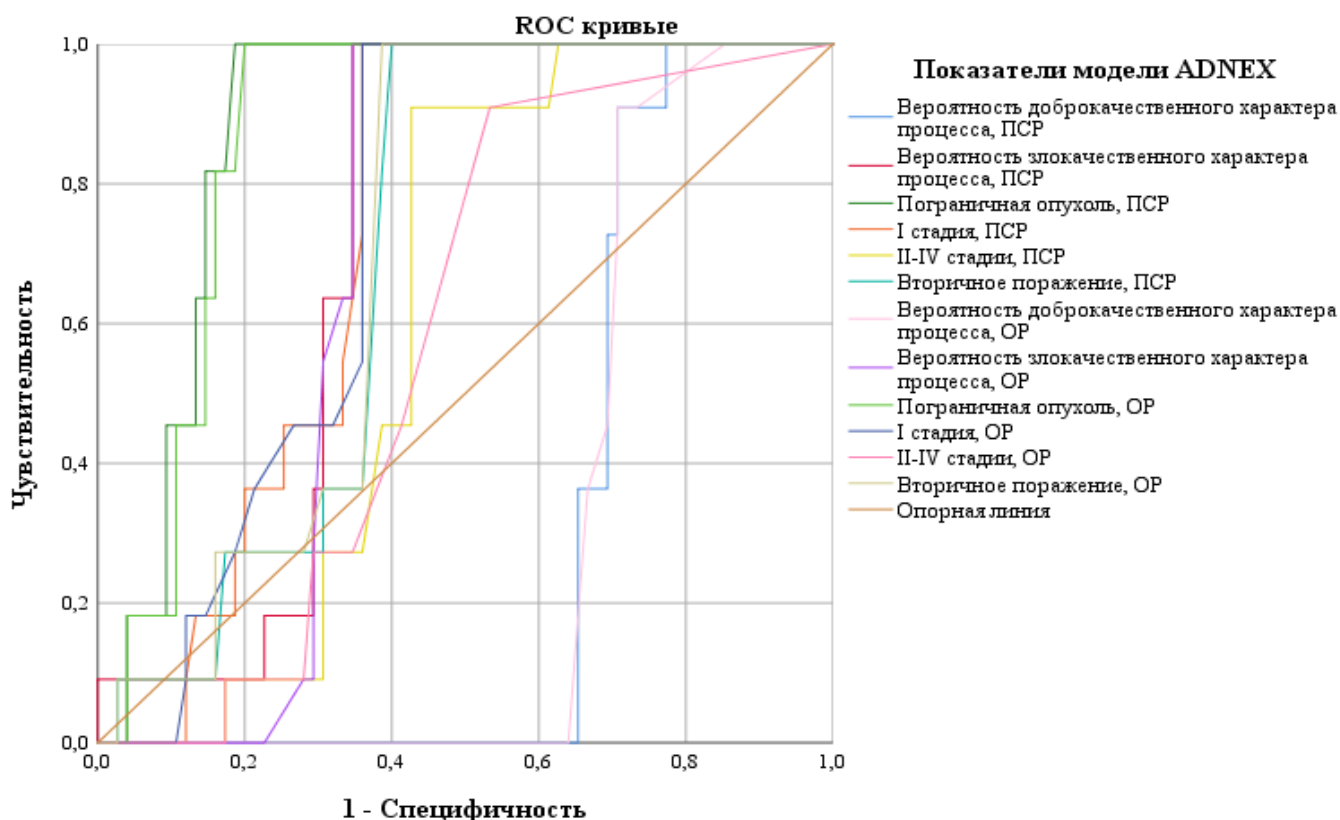


Рисунок 3.9 – ROC-кривые, характеризующие зависимость вероятности наличия у пациента ПОЯ от значений показателей модели ADNEX

Наибольшие значения площади под ROC-кривой, чувствительности и специфичности были отмечены для следующих 2 моделей: «Пограничная опухоль (ПСР и ОР)» ( $AUC > 0,85$ ,  $Se = 100$ ,  $Sp > 80$ ,  $p < 0,05$ ).

При анализе прогностической значимости показателей модели ADNEX статистически значимыми для выявления РЯ НСЗ оказались все построенные модели (Таблица 3.18),

чувствительность и специфичность построенных ROC-кривых указаны для порогового значения, при величине равном или превышающем которое прогнозировался максимальный риск наличия РЯ НСЗ (Рисунок 3.10).

Таблица 3.18 - Зависимость вероятности наличия у пациента РЯ НСЗ от значений показателей модели ADNEX

Показатели модели ADNEX	AUC	SD	p	95% ДИ		ПЗ, %	Se, %	Sp, %
				нижняя граница	верхняя граница			
Вероятность доброкачественного характера процесса, ПСР, %	0,12	0,04	< 0,001	0,04	0,21	6,75	50	13,2
Вероятность злокачественного характера процесса, ПСР, %	<b>0,87</b>	0,04	< 0,001	0,78	0,95	49,8	<b>100</b>	<b>71,1</b>
Пограничная опухоль, ПСР, %	<b>0,79</b>	0,05	<b>0,002</b>	0,69	0,91	5,6	100	59,2
I стадия, ПСР, %	<b>0,82</b>	0,05	<b>0,001</b>	0,73	0,91	4,6	100	68,1
II-IV стадии, ПСР, %	<b>0,87</b>	0,04	< 0,001	0,79	0,95	17,25	<b>100</b>	<b>85,5</b>
Вторичное поражение, ПСР, %	<b>0,86</b>	0,04	< 0,001	0,78	0,94	3,4	<b>100</b>	<b>80,3</b>
Вероятность доброкачественного характера процесса, ОР	0,11	0,04	< 0,001	0,04	0,19	0,05	50	7,9
Вероятность злокачественного характера процесса, ОР	<b>0,88</b>	0,04	< 0,001	0,8	0,96	1,6	<b>100</b>	<b>71,1</b>
Пограничная опухоль, ОР	<b>0,79</b>	0,06	<b>0,003</b>	0,68	0,89	0,85	100	58,9
I стадия, ОР	<b>0,81</b>	0,05	<b>0,001</b>	0,73	0,9	0,65	100	69,7
II-IV стадии, ОР	<b>0,87</b>	0,04	< 0,001	0,79	0,94	1,2	<b>100</b>	<b>85,5</b>
Вторичное поражение, ОР	<b>0,87</b>	0,04	< 0,001	0,79	0,94	0,85	<b>100</b>	<b>85,5</b>

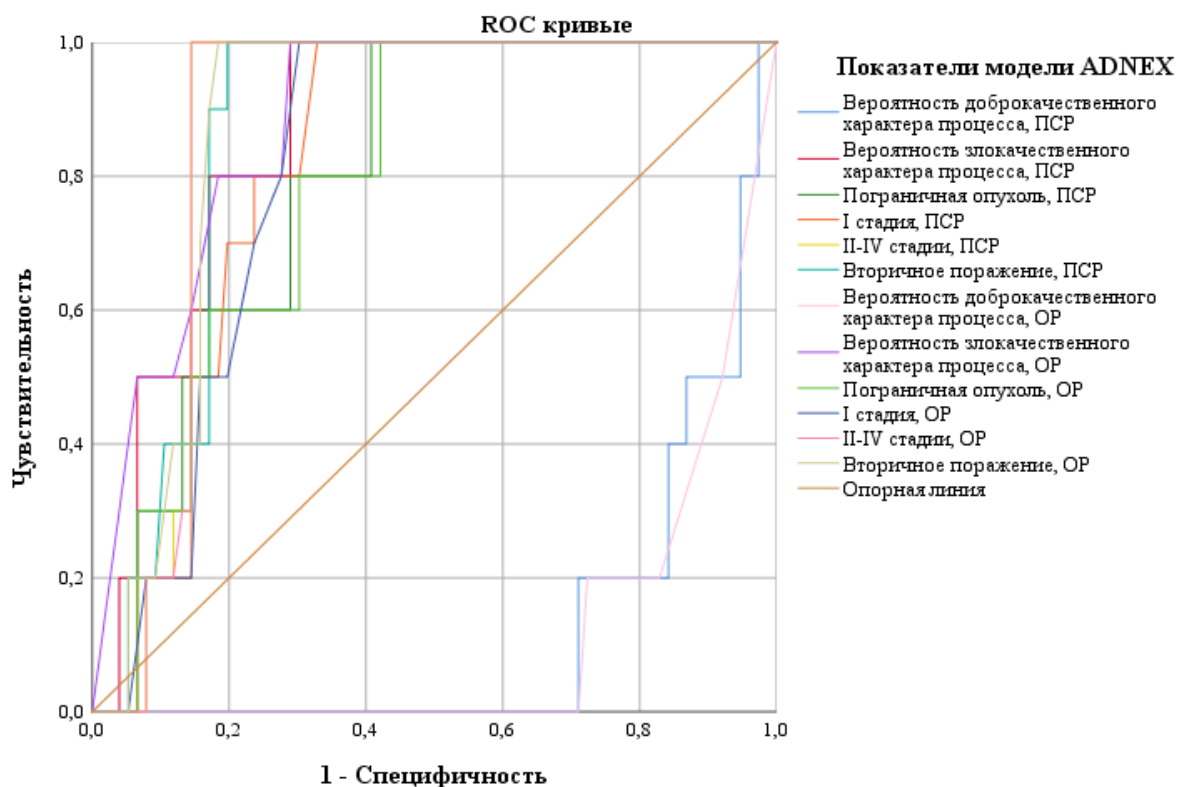


Рисунок 3.10 – ROC-кривые, характеризующие зависимость вероятности наличия у пациента РЯ НСЗ от значений показателей модели ADNEX

Наибольшие значения площади под ROC-кривой, чувствительности и специфичности были отмечены для следующих 6 моделей: «Вероятность злокачественного характера процесса (ПСП и ОР)», «II-IV стадии (ПСП и ОР)», «Вторичное поражение (ПСП и ОР)» ( $AUC > 0,85$ ,  $Se = 100$ ,  $Sp > 80$ ,  $p < 0,05$ ).

Статистически значимыми для прогнозирования наличия РЯ ВСЗ I-II стадий оказались 6 моделей, построенные на основании показателей ADNEX (Таблица 3.19). Чувствительность и специфичность построенных ROC-кривых указаны для порогового значения, при величине равном или превышающем которое прогнозировался максимальный риск наличия РЯ ВСЗ I-II стадии.

Таблица 3.19 - Зависимость вероятности наличия у пациента РЯ ВСЗ I-II стадий от значений показателей модели ADNEX

Показатели модели ADNEX	AUC	SD	p	95% ДИ		ПЗ, %	Se, %	Sp, %
				нижняя граница	верхняя граница			
Вероятность доброкачественного характера процесса, ПСП, %	0,24	0,06	<b>0,04</b>	0,13	0,35	11,8	50	23,7
Вероятность злокачественного характера процесса, ПСП, %	0,75	0,06	0,4	0,64	0,86	57,2	83,3	72,5
Пограничная опухоль, ПСП, %	<b>0,91</b>	0,05	<b>0,001</b>	0,81	1	42,2	<b>83,3</b>	<b>100</b>
I стадия, ПСП, %	<b>0,86</b>	0,05	<b>0,004</b>	0,76	0,95	5,8	<b>100</b>	<b>72,5</b>
II-IV стадии, ПСП, %	0,67	0,05	0,178	0,56	0,77	2,55	83,3	62,5
Вторичное поражение, ПСП, %	0,71	0,06	0,09	0,6	0,82	1,6	83,3	67,5
Вероятность доброкачественного характера процесса, ОР	0,26	0,06	0,05	0,15	0,37	0,15	66,7	23,7
Вероятность злокачественного характера процесса, ОР	<b>0,76</b>	0,06	<b>0,03</b>	0,65	0,87	1,75	<b>83,3</b>	<b>70</b>
Пограничная опухоль, ОР	<b>0,91</b>	0,05	<b>0,001</b>	0,8	1	6,7	<b>83,3</b>	<b>88,7</b>
I стадия, ОР	<b>0,86</b>	0,05	<b>0,003</b>	0,77	0,95	0,95	<b>83,3</b>	<b>81,2</b>
II-IV стадии, ОР	0,68	0,05	0,140	0,58	0,78	0,15	100	63,5
Вторичное поражение, ОР	0,72	0,06	0,08	0,6	0,83	0,4	83,3	67,5

Наибольшие значения площади под ROC-кривой, чувствительности и специфичности были отмечены для следующих моделей: «Пограничная опухоль (ПСП и ОР)», «I стадия (ПСП и ОР)», «Вероятность злокачественного характера процесса, ОР», ( $AUC > 0,75$ ,  $Se > 80$ ,  $Sp > 70$ ,  $p < 0,05$ , Рисунок 3.11).

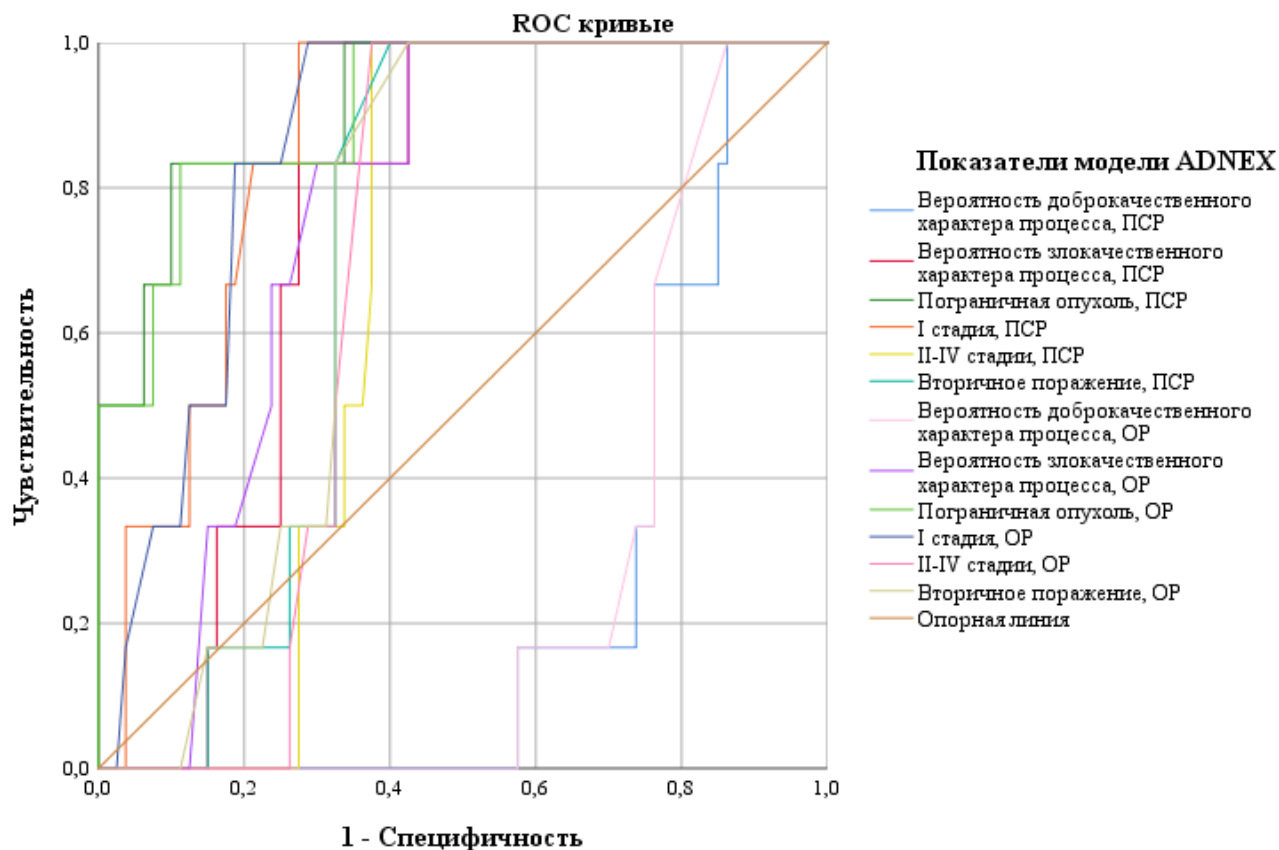


Рисунок 3.11 – ROC-кривые, характеризующие зависимость вероятности наличия у пациента РЯ ВСЗ I-II стадий от значений показателей модели ADNEX

Статистически значимыми для прогнозирования наличия РЯ ВСЗ III-IV стадий оказались 10 из 12 моделей, построенных на основании показателей ADNEX (Таблица 3.20, Рисунок 3.12). Чувствительность и специфичность построенных ROC-кривых указаны для порогового значения, при величине равном или превышающем которое прогнозировался максимальный риск наличия РЯ ВСЗ III-IV стадии.

Наибольшие значения площади под ROC-кривой, чувствительности и специфичности были отмечены для следующих 6 моделей: «Вероятность злокачественного характера процесса, ОР», «II-IV стадия (ПСР и ОР)» и «Вторичное поражение (ПСР и ОР)» ( $AUC > 0,90$ ,  $Se > 80$ ,  $Sp > 74$ ,  $p < 0,05$ , Рисунок 3.12).

Таблица 3.20 - Зависимость вероятности наличия у пациента РЯ ВСЗ III-IV стадий от значений показателей модели ADNEX

Показатели модели ADNEX	AUC	SD	p	95% ДИ		ПЗ, %	Se, %	Sp, %
				нижняя граница	верхняя граница			
Вероятность доброкачественного характера процесса, ПСР, %	0,06	0,03	< 0,001	0,01	0,11	2,8	60	6,6
Вероятность злокачественного характера процесса, ПСР, %	<b>0,93</b>	0,03	< 0,001	0,87	0,98	89,5	<b>100</b>	<b>84,2</b>
Пограничная опухоль, ПСР, %	0,43	0,08	0,48	0,28	0,58	6,45	50	55,3
I стадия, ПСР, %	0,73	0,08	<b>0,02</b>	0,58	0,88	3,7	80	57,1
II-IV стадии, ПСР, %	<b>0,99</b>	0,01	< 0,001	0,97	1,0	46,35	<b>100</b>	<b>98,6</b>
Вторичное поражение, ПСР, %	<b>0,91</b>	0,05	< 0,001	0,81	0,99	4	<b>90</b>	<b>80,3</b>
Вероятность доброкачественного характера процесса, ОР	0,06	0,03	< 0,001	0,01	0,11	0,05	40	6,6
Вероятность злокачественного характера процесса, ОР	<b>0,94</b>	0,03	< 0,001	0,88	0,97	2,75	<b>100</b>	<b>84,2</b>
Пограничная опухоль, ОР	0,49	0,09	0,92	0,32	0,66	0,75	60	50
I стадия, ОР	0,73	0,08	<b>0,02</b>	0,58	0,88	0,4	80	56,6
II-IV стадии, ОР	<b>0,99</b>	0,01	< 0,001	0,97	1,0	3,75	<b>90</b>	<b>74</b>
Вторичное поражение, ОР	<b>0,91</b>	0,05	< 0,001	0,82	0,99	1,05	<b>80</b>	<b>89,5</b>

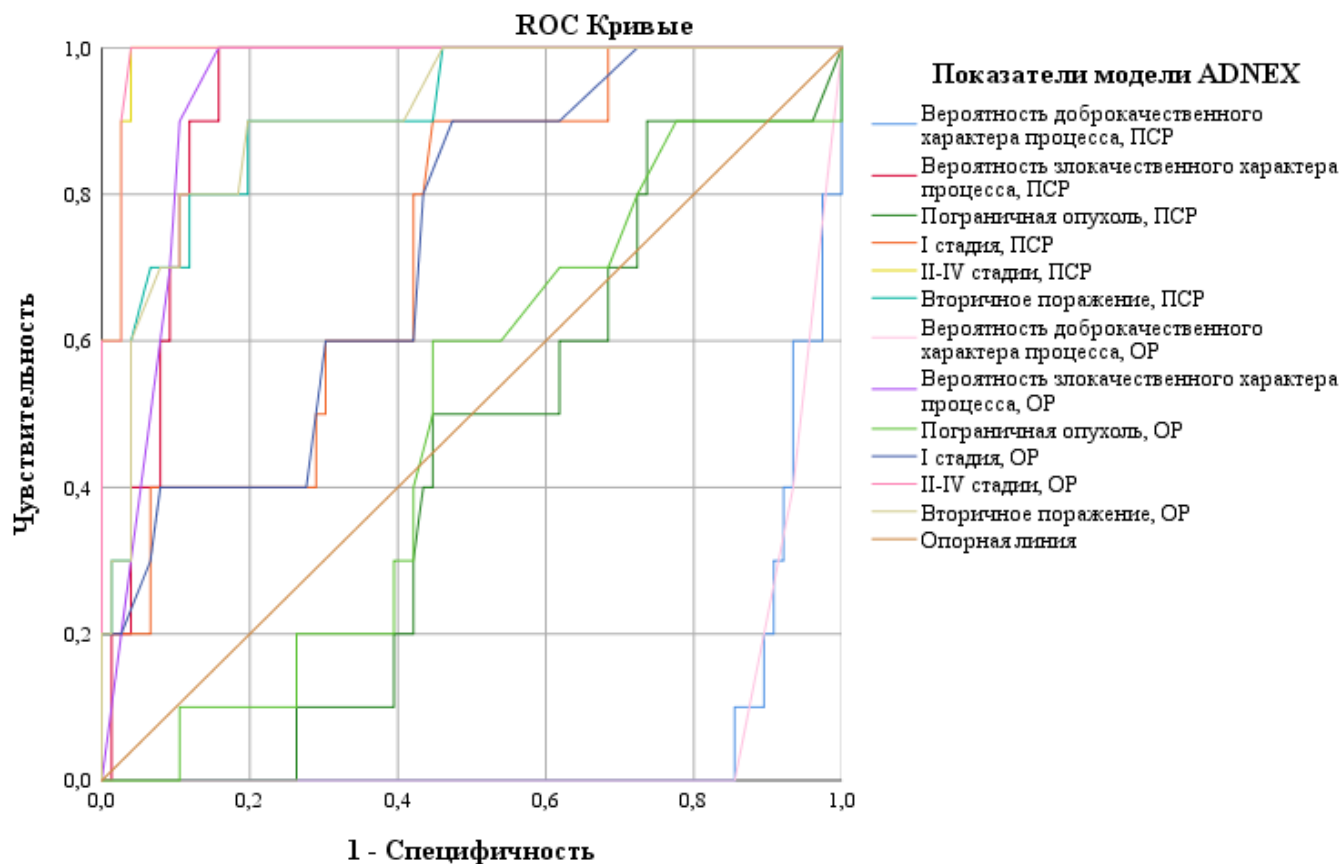
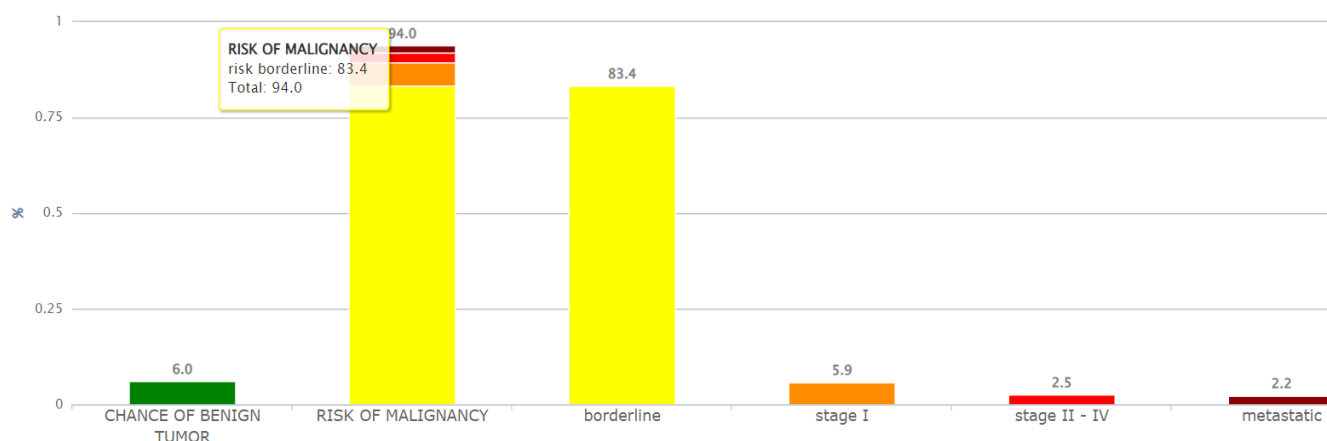


Рисунок 3.12 – ROC-кривые, характеризующая зависимость вероятности наличия у пациента РЯ ВСЗ III-IV стадий от значений показателей модели ADNEX

В качестве примера, иллюстрирующего последовательность применения диагностических методов, далее приведено клиническое наблюдение. Пациент П. 22 лет обратилась с данными УЗИ органов малого таза, выполненного в медицинском учреждении г. Москва. По данным исследований онкомаркеров крови от 16.06.2020: СА 125 - 29 Ед/мл, от 18.08.2020 г.: СА 125 - 40 Ед/мл, НЕ4 и СА19-9 - в пределах нормы. По данным УЗИ органов малого таза (ADNEX model, Рисунок 3.13), вероятность доброкачественного процесса – 6,0 % (RR=0,1), риск злокачественного процесса – 94,0 % (RR=3; пограничная опухоль – 83,4 % (RR=13,2), I стадия ЗНО – 5,9% (RR=0,8), II-IV стадии ЗНО – 2,5 % (RR=0,2), вероятность вторичного генеза опухолевого поражения яичников – 2,2 % (RR=0,5).



	Patient Specific Risk	Relative Risk	Baseline Risk
CHANCE OF BENIGN TUMOR	6.0 %	0.1	68.2%
RISK OF MALIGNANCY	94.0 %	3	31.8 %
->Risk borderline	83.4 %	13.2	6.3 %
->Risk stage I ovarian cancer	5.9 %	0.8	7.5 %
->Risk stage II-IV ovarian cancer	2.5 %	0.2	14.1 %
->Risk metastatic cancer to the adnexa	2.2 %	0.5	4.0 %

Рисунок 3.13 - Пример расчета рисков злокачественного характера образования правого яичника пациента П. на основании данных программы, предложенной группой ЮТА: вероятность доброкачественного процесса – 6.0% (RR=0,1), риск злокачественного процесса – 94,0% (RR=3; пограничная опухоль – 83,4% (RR=13,2), I стадия ЗНО – 5,9% (RR=0,8), II-IV стадии ЗНО – 2,5% (RR=0,2), вероятность вторичного генеза опухолевого поражения яичников – 2,2% (RR=0,5). Примечание: Patient Specific Risk – пациент-специфический риск (ПСП), Relative Risk – относительный риск (ОР)

Пример клинического использования формулы 3.1 для выяснения вероятности наличия злокачественного процесса (РЯ НСЗ, РЯ ВСЗ) у пациента П.:

$$z = -0,005 - 1,003 \times 23 + 0,499 \times 77 + 3,401 \times 67 - 6,441 \times 7,4 - 0,052 \times 1,5 + 3,968 \times 1,1 + 0,000 \times 0,3 - 0,086 \times 2,4 + 0,549 \times 10,6 - 0,932 \times 1 + 2,701 \times 0,1 + 4,419 \times 0,3 = 206,116,$$

Вероятность наличия злокачественного процесса (P) составила 23,4%.

МР-картина двухкамерного кистозного жидкостного образования правого яичника размерами 5.7 x 2.0 x 1.5 см с плотной капсулой, неравномерно истонченной по заднему контуру максимальной кистозной полости, в обеих кистозных полостях дифференцируются

пристеночные полиповидные образования, образование наиболее соответствует папиллярной цистаденоме; МР-картина не позволяет исключить распространение папиллярных образований на наружную поверхность капсулы яичника; в правой общей подвздошной группе определяется единичный ЛУ увеличенный до 0,4 x 1,5 x 1,0 см (остальные ЛУ таза – до 0,6 см). По данным МСКТ органов грудной клетки: патологических очагов не выявлено. Решением консилиума (гинеколог-онколог, специалист-репродуктолог, гинеколог-эксперт ультразвукового метода диагностики, врач-эксперт-радиолог и врач-патоморфолог) была выбрана тактика, направленная на сохранение фертильности при условии соблюдения всех этапов интраоперационного стадирования. Была выполнена лапароскопия, взятие тазовых смывов, резекция правого яичника со срочным гистологическим исследованием, биопсия левого яичника, резекция большого сальника, мультифокальная биопсия брюшины, резекция очагов эндометриоза позадиматочной брюшины и левого латерального канала, гистероскопия, биопсия эндометрия. По данным гистологического исследования макропрепарата удаленного образования яичника: серозная пограничная опухоль правого яичника (Рисунок 3.14), прорастания капсулы яичника и инвазии в строму не выявлено [17].

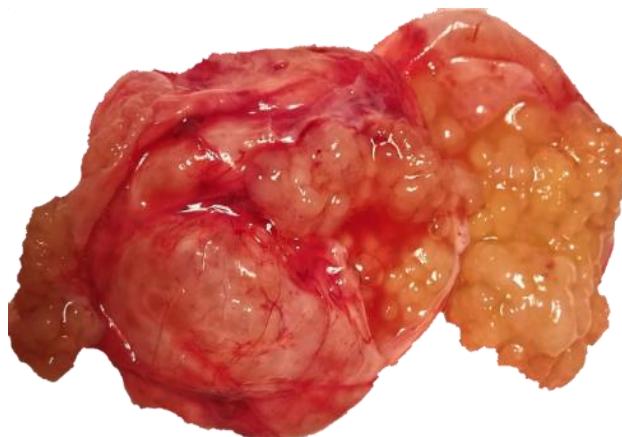


Рисунок 3.14 - Макропрепарат серозной пограничной опухоли правого яичника пациента П.: кистозное образование (вскрыто) размером 4 x 3 x 6,4 см с сосочковыми разрастаниями по внутренней поверхности, наружная поверхность гладкая

После оперативного лечения были даны рекомендации по срокам и объему динамического наблюдения.

### 3.2 Определение диагностической ценности применения омиксных технологий при доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолях и опухолевидных образованиях яичников

#### 3.2.1 Диагностика доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолей и опухолевидных образований яичников при помощи определения липидного профиля крови методом ВЭЖХ-МС

Проведен анализ дифференциально-диагностической ценности определения липидного профиля плазмы крови методом ВЭЖХ-МС у пациентов с гистологически верифицированными доброкачественными, пограничными и злокачественными ООВОЯ. В исследование были включены 222 пациента: 32 пациента с цистаденомой, 58 – с ЭКЯ, 23 – с тератомой, 30 - с ПОЯ, 16 - с РЯ НСЗ и 63 - с РЯ ВСЗ (клиническое описание пациентов приведено в Таблице 3.1).

Молекулярная визуализация образцов крови выполнена в режимах положительных (РПИ) и отрицательных (РОИ) ионов. Была проведена оценка соответствия полученных липидных профилей предполагаемого и верифицированного диагнозов на основании анализа чувствительности (Se) и специфичности (Sp) диагностических показателей, а также прогностической ценности положительного (ПЦ «+») и отрицательного (ПЦ «-») результатов.

Образцы крови пациентов с РЯ ВСЗ были сопоставлены с образцами крови пациентов с ДОЯ. Для построения модели, дифференцирующей РЯ ВСЗ от серозной цистаденомы, липиды статистически значимо различались в группах: 61 в РПИ (Se=76.19%, Sp=90%, ПЦ «+»=94.12%, ПЦ «-»=64,29%, Рисунки 3.15 А, 3.16 А) и 50 липидов в РОИ (Se=71.43%, Sp=96.67%, ПЦ «+»=97.83%, ПЦ «-»=61.7%, Рисунки 3.15 Б, 3.16 Б).

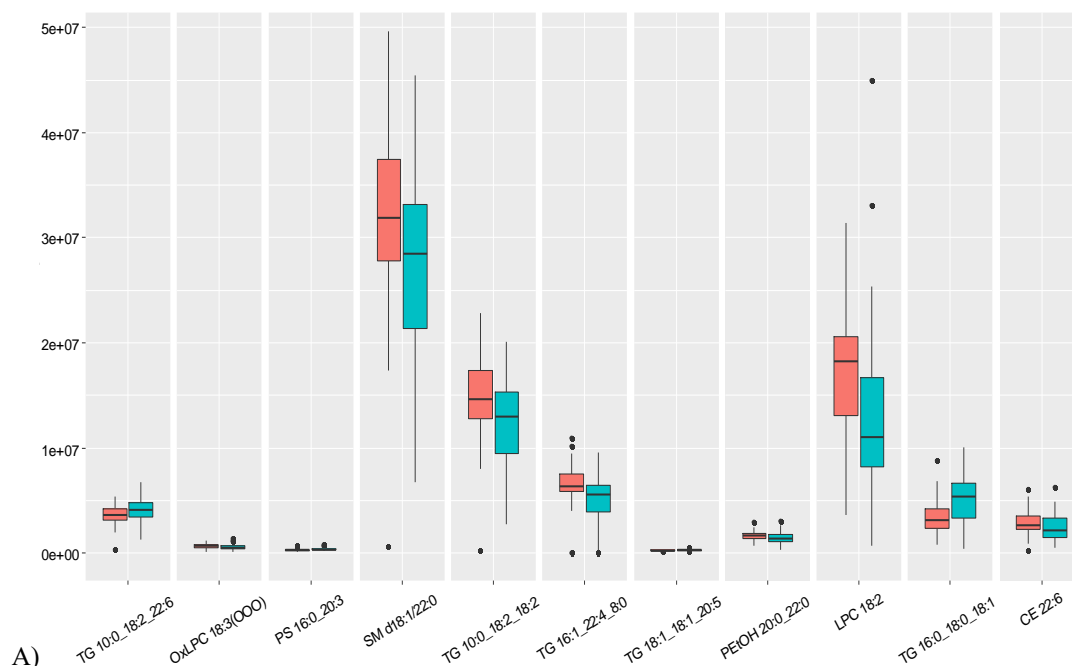
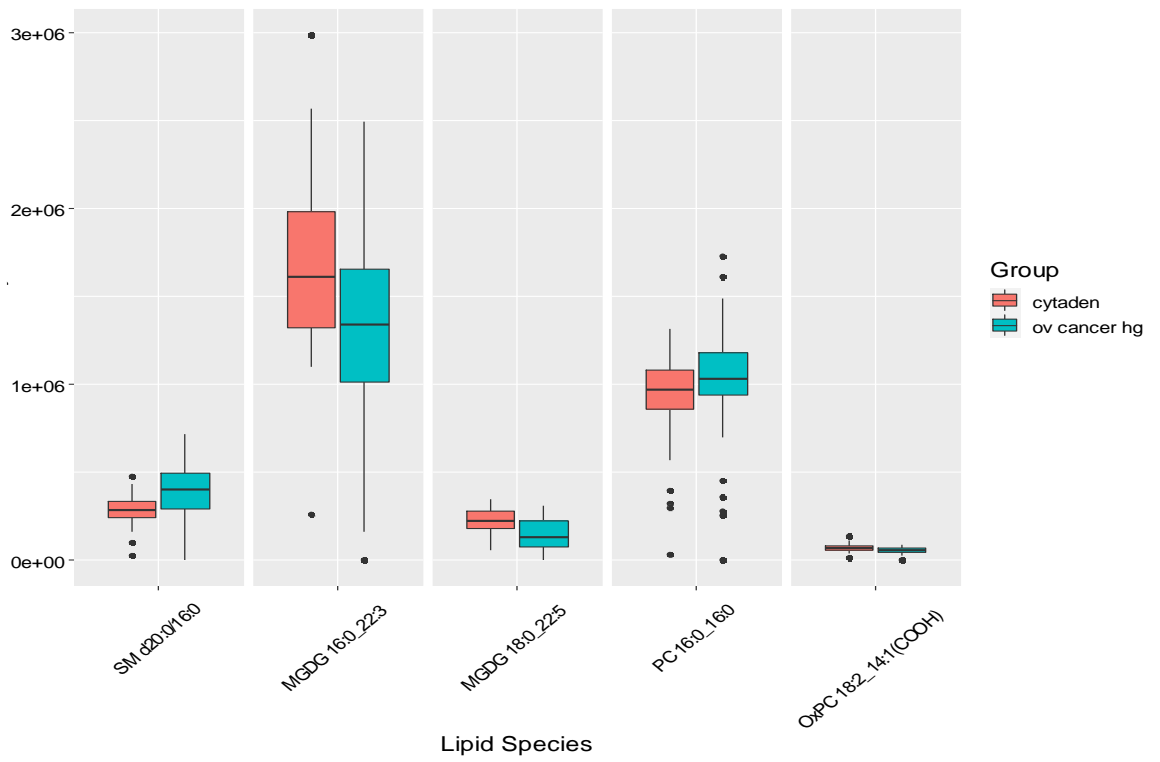
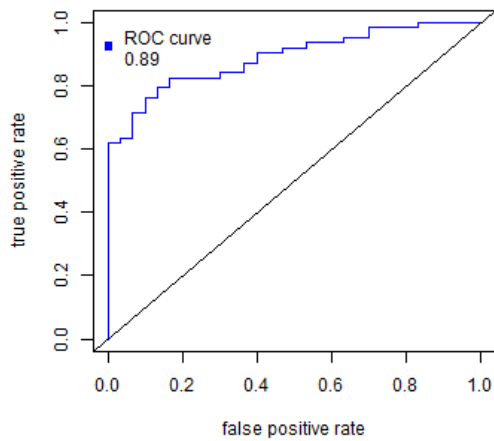


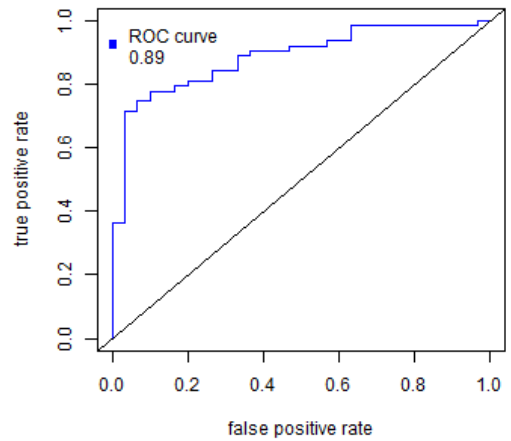
Рисунок 3.15 – Уровни дифференцирующих липидов для образцов крови пациентов с РЯ ВСЗ (бирюзовый бокс) и с серозной цистаденомой (оранжевый бокс) А) РПИ, Б) РОИ



Продолжение Рисунка 3.15



А)



Б)

Рисунок 3.16 - ROC-кривые, полученные при попарном сравнении липидного профиля пациентов с РЯ ВСЗ и с серозной цистаденомой: А) РПИ (AUC = 0,89, Se = 0,76, Sp = 0,90); Б) РОИ (AUC = 0,89, Se = 0,71, Sp = 0,97)

Для построения модели, дифференцирующей РЯ ВСЗ от эндометриоидной кисты, значимыми были 97 липидов в РПИ (Se=88.89%, Sp=87.3%, ПЦ «+»=87.5%, ПЦ «-»=88.71%) и 59 липидов в РОИ (Se=93.65%, Sp=74.6%, ПЦ «+»=78.67%, ПЦ «-»=92.16%), Рисунки 3.17 и 3.18.

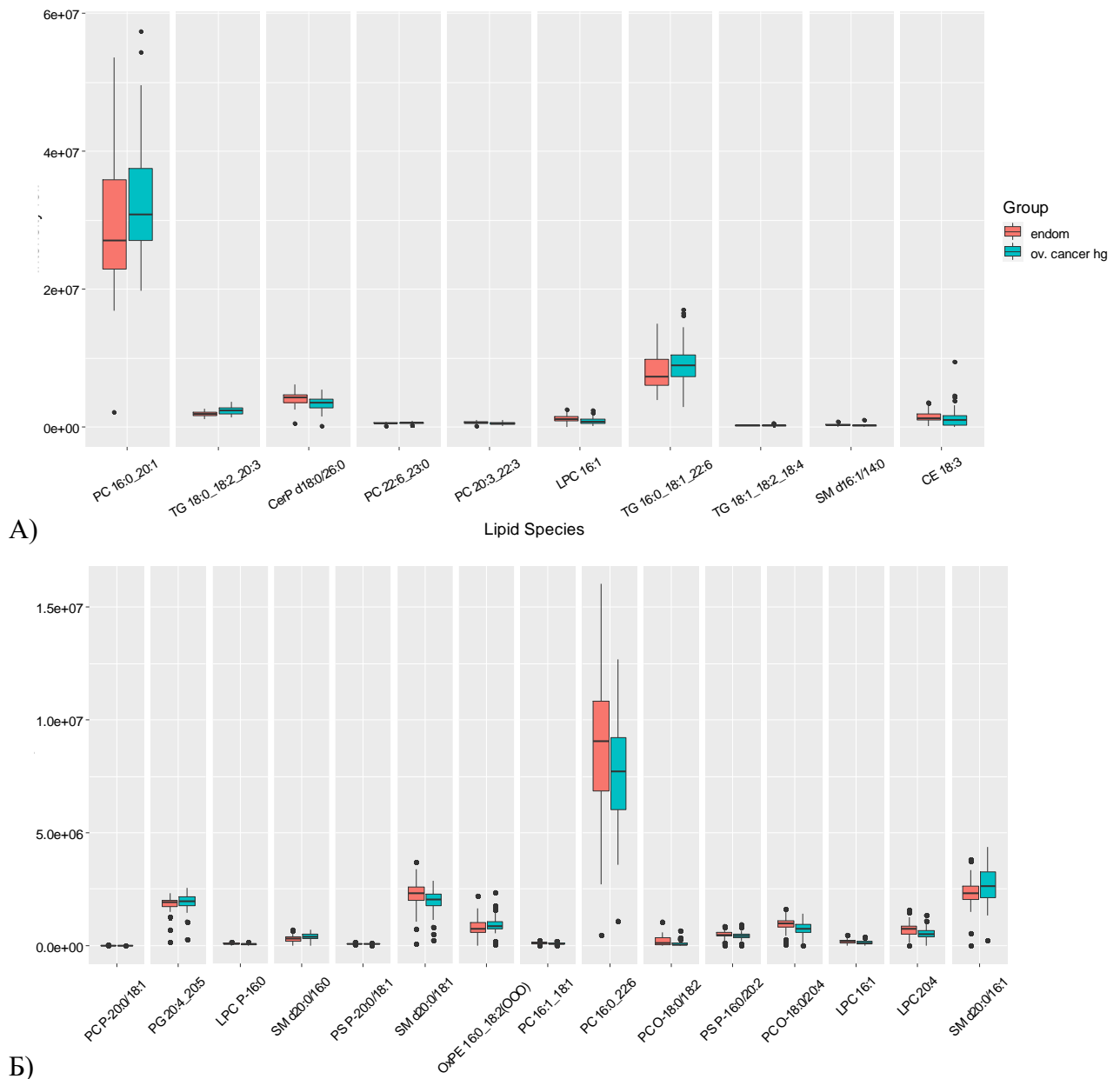


Рисунок 3.17 – Уровни дифференцирующих липидов для образцов крови с РЯ ВСЗ (бирюзовый бокс) и с ЭКЯ (оранжевый бокс), А) РПИ, Б) РОИ

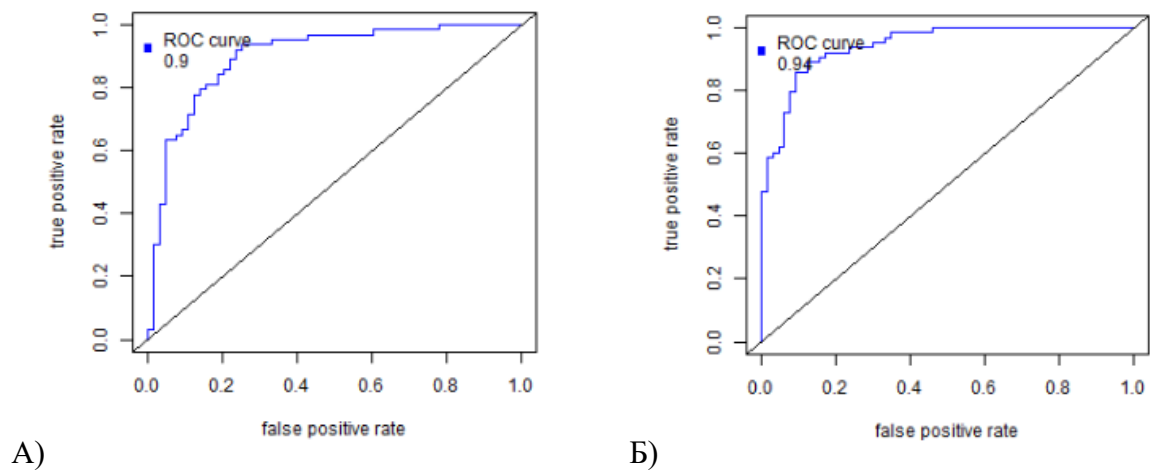


Рисунок 3.18 - ROC-кривые, полученные при попарном сравнении образцов групп пациентов с РЯ ВСЗ и с ЭКЯ (1 – РОИ, AUC = 0,9, Se = 94, Sp = 0,75; 2 – РПИ, AUC = 89, Se = 0,88, Sp = 0,94)

Для построения модели, дифференцирующей РЯ ВСЗ от тератомы, значимыми были 45 липидов в режиме положительных ионов ( $Se=85.71\%$ ,  $Sp=85.71\%$ , ПЦ «+» =94.74%, ПЦ «-» =66.67%) и 19 липидов в режиме отрицательных ионов ( $Se=85.71\%$ ,  $Sp=85.71\%$ , ПЦ «+» =94.74%, ПЦ «-» =66.67%), Рисунок 3.19.

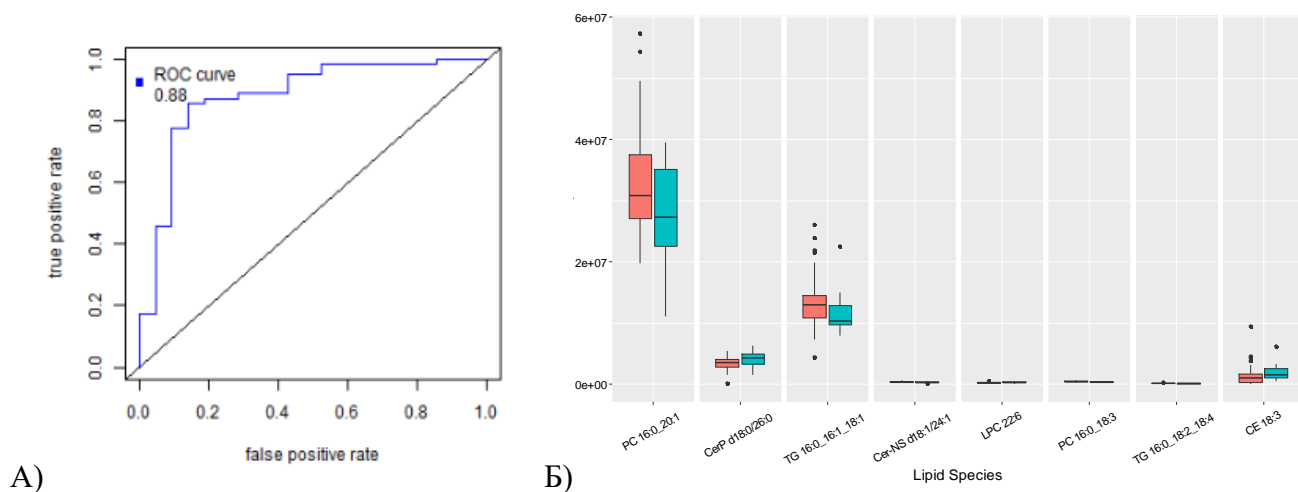


Рисунок 3.19 – А) Уровни дифференцирующих липидов для образцов при РЯ ВСЗ (оранжевый бокс) и при тератоме (бирюзовый бокс). Б) ROC-кривая, полученная при попарном сравнении образцов крови при РЯ ВСЗ и при тератоме (РПИ),  $AUC = 88$ ,  $Se = 0,86$ ,  $Sp = 0,86$

Образцы крови пациентов с РЯ ВСЗ были сопоставлены с образцами крови пациентов, которые в дальнейшем получили лечение по поводу РЯ НСЗ или ПОЯ.

Для построения модели, дифференцирующей РЯ ВСЗ от РЯ НСЗ, значимыми были 12 липидов в РПИ ( $Se=84.13\%$ ,  $Sp=68.75\%$ , ПЦ «+» =91.38%, ПЦ «-» =52.38%) и 8 липидов в РОИ ( $Se=80.95\%$ ,  $Sp=62.5\%$ , ПЦ «+» =89.47%, ПЦ «-» =45.45%), данные приведены в Таблице 3.21.

Таблица 3.21 – Уровни липидов, характеризующих различия между образцами плазмы крови пациентов с серозным раком яичников высокой и низкой степенью злокачественности

Липиды	РЯ ВСЗ, Ме (Q1; Q3)	РЯ НСЗ, Ме (Q1; Q3)	P
<b>Режим положительных ионов</b>			
Cer-NS d18:1/24:1	3.52E5(2.90E5;4.18E5)	3.24E5(2.40E5;3.63E5)	0.04
PC 16:0_18:1	9.30E7(5.51E7;1.21E8)	5.94E7(4.83E7;8.13E7)	0.03
PC 18:2_20:3	1.08E6(8.50E5;1.54E6)	1.61E6(1.31E6;1.93E6)	0.01
PE 16:0_22:6	1.94E6(1.53E6;2.25E6)	1.46E6(1.09E6;1.70E6)	0.003
PE 18:1_20:0	2.23E6(1.85E6;2.67E6)	1.81E6(1.62E6;2.18E6)	0.03
PS 16:0_20:3	3.19E5(2.56E5;3.80E5)	2.35E5(1.92E5;3.06E5)	0.003
SM d18:1/18:0	1.13E7(8.68E6;1.31E7)	8.51E6(8.05E6;1.06E7)	0.02
SM d18:1/20:1	2.27E6(2.10E6;2.64E6)	2.00E6(1.75E6;2.4E6)	0.02
SM d18:2/24:0	6.35E7(5.40E7;7.56E7)	5.77E7(4.69E7;6.32E7)	0.04
TG 10:0_18:2_22:6	4.10E6(3.39E6;4.81E6)	3.45E6(2.90E6;3.81E6)	0.01
TG 12:0_18:2_18:3	3.18E7(2.67E7;3.77E7)	2.82E7(2.34E7;3.08E7)	0.04
TG 16:0_18:0_18:1	5.32E6(3.28E6;6.68E6)	4.58E6(2.30E6;5.24E6)	0.04

## Продолжение Таблицы 3.21

Липиды	РЯ ВСЗ, Ме (Q1; Q3)	РЯ НСЗ, Ме (Q1; Q3)	P
<b>Режим отрицательных ионов</b>			
MGDG 18:1_22:6	8.92E5(7.65E5;1.02E6)	7.63E5(6.89E5;8.69E5)	0.02
OxPC 18:0_18:4	1.21E6(1.01E6;1.49E6)	9.43E5(7.36E5;1.16E6)	0.01
OxPC 18:1_16:1	8.17E4(4.42E4;2.36E5)	4.18E4(1.38E4;7.09E4)	0.007
OxPE 16:0_18:2	8.76E5(7.49E5;1.07E6)	6.47E5(4.29E5;8.25E5)	0.01
PC 16:0_16:1	1.07E6(8.29E5;1.33E6)	8.20E5(6.70E5;1.03E6)	0.03
SM d20:0/16:1	2.65E6(2.14E6;3.26E6)	2.18E6(1.82E6;2.64E6)	0.04
SM d22:0/20:1	1.23E6(6.31E5;1.89E6)	6.46E5(3.30E5;1.08E6)	0.01
SM d22:0/20:2	1.05E7(8.48E6;1.27E7)	9.39E6(7.67E6;1.02E7)	0.04

Сравниваемые группы эпителиальных серозных опухолей различаются по содержанию преимущественно сфингомиелинов, фосфатидилхолинов (включая окисленные формы), триглицеридов и фосфатидилэтаноламинов. ROC-кривые, полученные при попарном сравнении образцов групп пациентов с РЯ ВСЗ и РЯ НСЗ в режимах отрицательных и положительных ионов характеризовались следующими показателями, соответственно: AUC= 0,69, Se = 0,81, Sp = 0,62 и AUC= 0,75, Se = 0,84, Sp = 0,69.

Для построения модели, дифференцирующей РЯ ВСЗ от ПОЯ, значимыми были 77 липидов в РПИ (Se=68.25%, Sp=89.29%, ПЦ «+»=93.48%, ПЦ «-»=55.56%) и 52 липида в РОИ (Se=84.13%, Sp=68.75%, ПЦ «+»=91.38%, ПЦ «-»=52.38%), Рисунок 3.20.

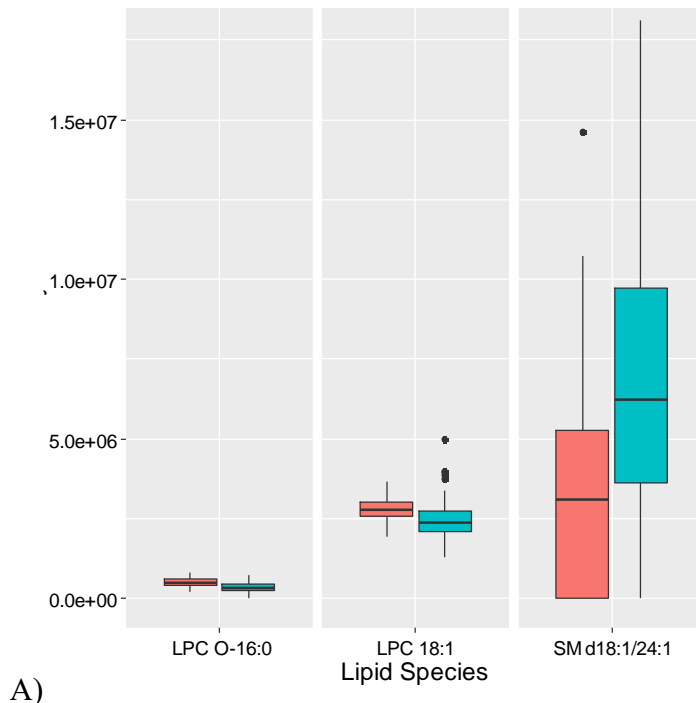
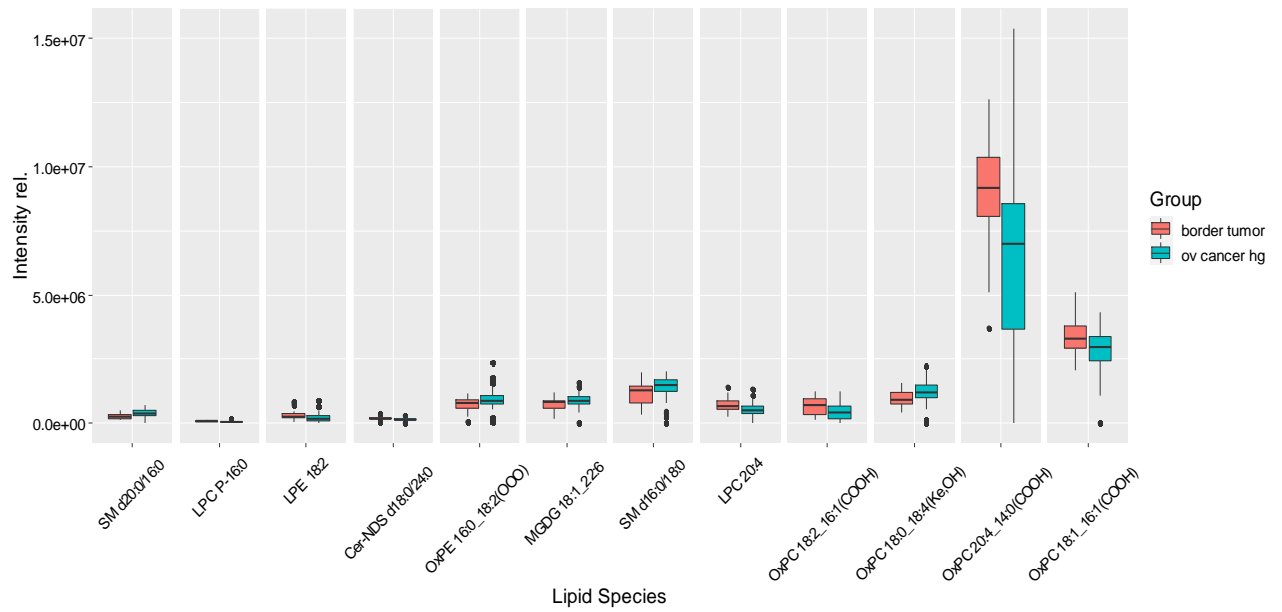


Рисунок 3.20 – Уровни липидов, дифференцирующих образцы крови пациентов с РЯ ВСЗ (бирюзовый бокс) и ПОЯ (оранжевый бокс), А) РПИ, Б) РОИ



Б)  
Продолжение Рисунка 3.20

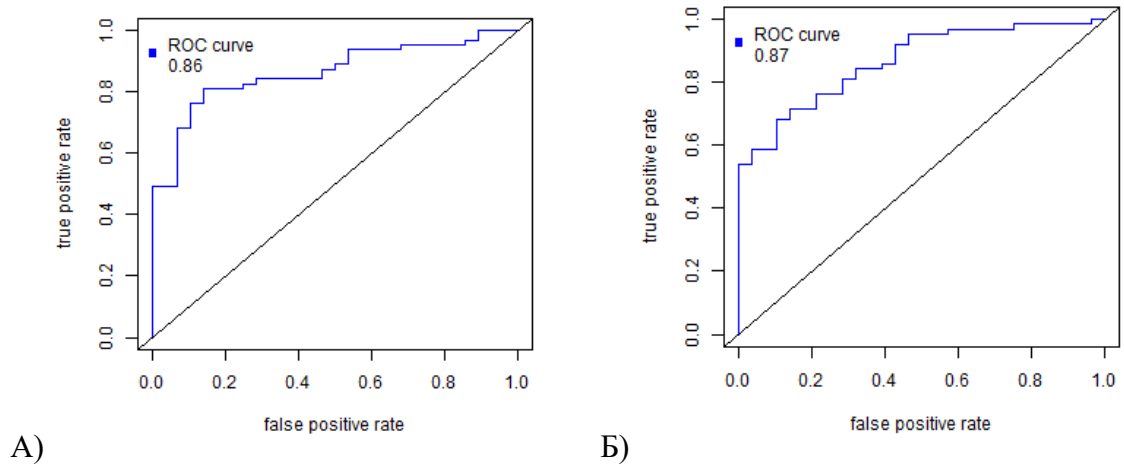
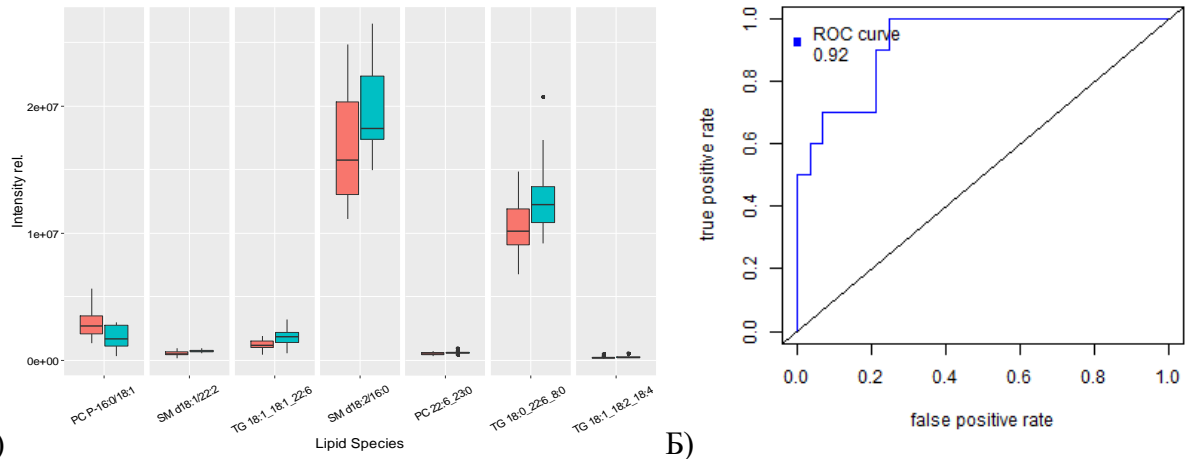


Рисунок 3.21 - ROC-кривые, полученные при попарном сравнении образцов групп пациентов с РЯ ВСЗ и ПОЯ (А) – ROI, AUC = 0,86, Se = 0,81, Sp = 0,86; Б) – PII, AUC = 0,87, Se = 0,68, Sp = 0,89)

При подразделении группы пациентов с РЯ ВСЗ в соответствии со стадиями заболевания, были получены следующие данные. Для построения модели, дифференцирующей I-II стадии РЯ ВСЗ и ПОЯ, значимыми были 20 липидов в режиме положительных ионов (Se=100%, Sp=75%, ПЦ «+»=58.82%, ПЦ «-»=100%) и 5 липидов в режиме отрицательных ионов (Se=80%, Sp=71.43%, ПЦ «+»=50%, ПЦ «-»= 90.91%).



А) Рисунок 3.22 – А) Уровни дифференцирующих липидов для образцов крови с I-II стадиями РЯ ВСЗ (бирюзовый бокс) и ПОЯ (оранжевый бокс). Б) ROC-кривые, полученные при попарном сравнении образцов групп пациентов с I-II стадиями РЯ ВСЗ и ПОЯ (РПИ, AUC = 0,92, Se = 1, Sp = 0,75)

Для построения моделей, дифференцирующих III-IV стадии РЯ ВСЗ и ПОЯ, значимыми были 55 липидов в режиме положительных ионов (Se = 98.11%, Sp = 78.57%, ПЦ «+» = 89.66%, ПЦ «-» = 95.65%) и 83 липидов в режиме отрицательных ионов (Se = 73.58%, Sp = 100%, ПЦ «+» = 100%, ПЦ «-» = 66.67%), Рисунок 3.23.

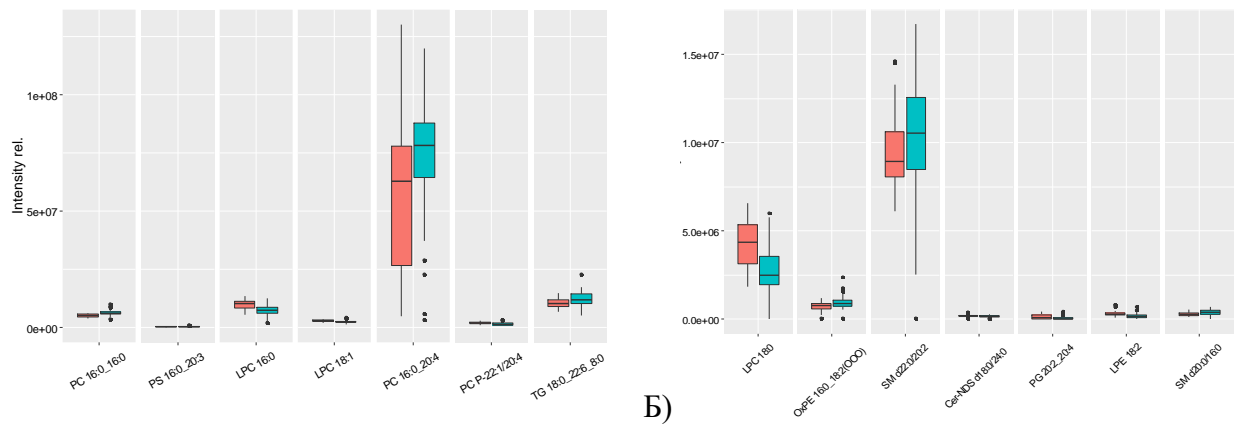


Рисунок 3.23 – Уровни дифференцирующих липидов для образцов крови при III-IV стадиях РЯ ВСЗ (бирюзовый бокс) и при ПОЯ (оранжевый бокс)

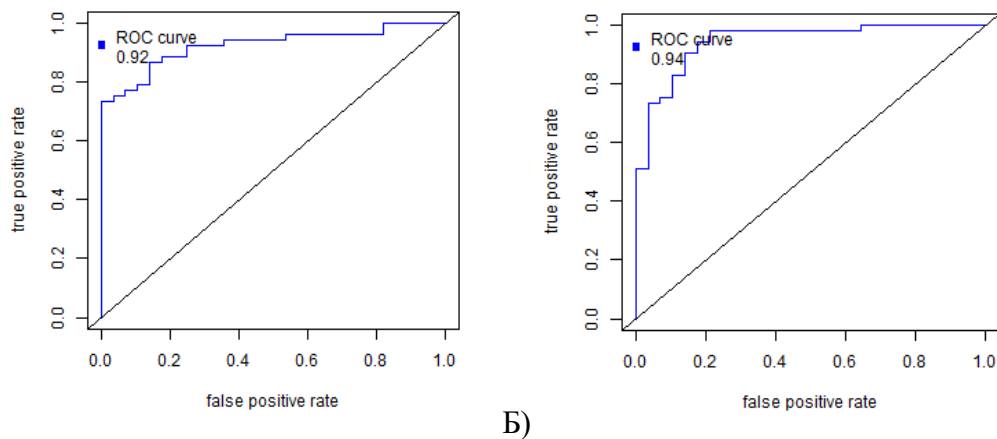


Рисунок 3.24 - ROC-кривые, полученные при попарном сравнении липидных профилей образцов крови пациентов с III-IV стадиями РЯ ВСЗ и ПОЯ (А) – РОИ, AUC = 0,92, Se = 0,74, Sp = 1; Б) – РПИ, AUC = 0,94, Se = 0,98, Sp = 0,79)

Показатели моделей логистической регрессии, полученные при определении липидного профиля плазмы крови пациентов с ООВОЯ методом ВЭЖХ-МС, приведены в Таблице 3.22.

Таблица 3.22 – Показатели моделей логистической регрессии при определении липидного профиля плазмы крови пациентов с ООВОЯ при помощи метода ВЭЖХ-МС

Группа	AUC, %	Se, %	Sp, %
РЯ ВСЗ – контроль (РОИ)	<b>94</b>	<b>82</b>	<b>100</b>
РЯ ВСЗ – контроль (РПИ)	<b>92</b>	<b>86</b>	<b>89</b>
РЯ ВСЗ I-II и III-IV стадий (РОИ)	66	< 60	< 60
РЯ ВСЗ I-II и III-IV стадий (РПИ)	81	92	60
РЯ ВСЗ I-II стадий - контроль (РОИ)	69	60	85
РЯ ВСЗ I-II стадий - контроль (РПИ)	70	80	58
РЯ ВСЗ – цистаденома (РОИ)	<b>89</b>	<b>71</b>	<b>97</b>
РЯ ВСЗ – цистаденома (РПИ)	<b>89</b>	<b>76</b>	<b>90</b>
РЯ ВСЗ – ЭКЯ (РОИ)	<b>90</b>	<b>94</b>	<b>75</b>
РЯ ВСЗ – ЭКЯ (РПИ)	<b>89</b>	<b>88</b>	<b>94</b>
РЯ ВСЗ – тератома (РОИ)	< 60	< 60	< 60
РЯ ВСЗ – тератома (РПИ)	<b>88</b>	<b>86</b>	<b>86</b>
РЯ ВСЗ - РЯ НСЗ (РОИ)	69	81	62
РЯ ВСЗ - РЯ НСЗ (РПИ)	75	84	69
РЯ ВСЗ – ПОЯ (РОИ)	<b>86</b>	<b>81</b>	<b>86</b>
РЯ ВСЗ – ПОЯ (РПИ)	87	68	89
I-II стадии РЯ ВСЗ – ПОЯ (РОИ)	< 60	< 60	< 60
I-II стадии РЯ ВСЗ – ПОЯ (РПИ)	<b>92</b>	<b>100</b>	<b>75</b>

Из представленных в Таблице 3.19 диагностических моделей, построенных на основании липидных профилей крови, были отобраны наиболее точные. Показатели соответствие предположительного диагноза гистологически верифицированному приведено в Таблице 3.23.

Таблица 3.23 – показатели диагностической точности (максимальные выделены голубым цветом) построенных дифференциально-диагностических моделей соответствия предполагаемого диагноза (на основании липидов, режим комбинированных ионов) гистологически верифицированному заключению

Диагноз	Se, %	Sp, %	ПЦ «+», %	ПЦ «-», %
цистаденома	80	90,48	57,14	96,61
РНГЭ + ЭКЯ	69,84	89,24	72,13	88,13
тератома	60	93,37	50	95,9
ПОЯ	57,14	94,82	61,54	93,85
РЯ НСЗ	43,75	94,63	38,89	95,57
РЯ ВСЗ	62,9	94,9	82,98	86,63

Для поиска потенциальных дифференциально-диагностических липидных маркеров ООВОЯ по липидному профилю плазмы крови первым этапом было проведено сравнение образцов крови пациентов с РЯ ВСЗ I-II и III-IV стадий, ПОЯ и РЯ НСЗ с образцами наблюдаемых группы контроля. Из продемонстрировавших статистически значимые различия (X) были отобраны липиды, которые были повышены по сравнению с теми образцами,

изменение которых в контролируемом сравнении установлено не было (Y), и различали образцы пациентов с новообразованиями от образцов крови группы контроля ( $X > Y$ ). Остальные липиды были «отсеяны» и не рассматривались далее в качестве кандидатов в маркеры. Содержание отобранных липидов было сопоставлено с содержанием в крови при ДОЯ (X по сравнению с D). Установленные изменения позволили предложить отобранные липиды в качестве кандидатов в маркеры при изучаемых ООВОЯ ( $X > D$ ).

При прицельном рассмотрении повышенных липидов, вошедших в состав дифференцирующих панелей, были получены следующие данные. Повышение 7 липидов (PS 16:0\_20:3, SM d18:1/18:0, TG 16:0\_18:0\_18:1, PE 16:0\_22:6, PC 16:0\_20:4, TG 18:0\_22:6\_8:0 и TG 18:1\_18:2\_20:5), обнаруженное в режиме положительных ионов, и двух липидов (SM d16:0/18:0, PC 16:0\_16:1), обнаруженное в режиме отрицательных ионов, позволило дифференцировать образцы крови пациентов с РЯ ВСЗ от крови наблюдаемых группы контроля. Повышение данных липидов не было отмечено при сравнении образцов крови пациентов с РЯ ВСЗ I-II стадий, РЯ НСЗ и ПОЯ и образцов крови групп контроля, в связи с чем дальнейшее сравнение с образцами крови пациентов с доброкачественной патологией не проводилось. Полученные данные позволяют рассматривать повышение перечисленных липидов в качестве маркера, дифференцирующего распространенные стадии РЯ ВСЗ от доброкачественных образований, ПОЯ и РЯ НСЗ.

Определение повышения ряда липидов позволило дифференцировать образцы крови пациентов с ПОЯ, РЯ НСЗ и РЯ ВСЗ от образцов крови пациентов с ДОЯ: повышение PEtOH 26:1\_26:4 было отмечено у пациентов с РЯ НСЗ или ПОЯ, повышение PC 16:0\_18:3 - при РЯ ВСЗ III-IV стадий или РЯ НСЗ, OхPE 16:0\_18:2 – при РЯ ВСЗ III-IV стадий или цистаденоме, MGDG 16:0\_20:2 и MGDG 18:1\_22:6 – при цистаденоме, зрелой тератоме или РЯ ВСЗ III-IV стадий, повышение PC 22:6\_23:0 и OхPC 18:0\_18:4 – при цистаденоме, тератоме или при РЯ ВСЗ I-II стадий, повышение SM d20:0/16:0 – при тератоме, РЯ НСЗ или при РЯ ВСЗ I-II стадий, повышение TG 10:0\_18:2\_22:6 – при ЭКЯ, тератоме или РЯ ВСЗ III-IV стадий, повышение OхTG 16:1\_18:0\_16:1 – при РЯ ВСЗ III-IV стадий, или РЯ НСЗ, или ПОЯ, повышение DG 16:0\_18:1 – при ДОЯ или ПОЯ, но не встречалось в других группах. Повышение TG 16:0\_18:0\_18:4 и DG 18:1\_18:2 было отмечено во всех группах, но не встречалось у пациентов с ранними стадиями РЯ ВСЗ. Детекция остальных липидов наблюдалась в большем количестве групп, что снизило их специфичность, в связи с чем они не рассматривались в качестве кандидатов в дифференциально-диагностические маркеры.

Был выделен перечень значимых липидов, различимых при изученных нозологиях (Таблица 3.24), благодаря имплементации метода оптимизирован алгоритм ведения пациентов

на этапе дифференциальной диагностики опухолей и опухолевидных образований яичников– (Приложение Б).

Таблица 3.24 – Панель статистически значимо различающихся липидов для усовершенствования дифференциально-диагностического алгоритма ведения пациентов с ООВОЯ

<b>РЯ НСЗ, ПОЯ</b>	<b>РЯ ВСЗ III-IV стадий, цистаденома</b>	<b>РЯ ВСЗ III-IV стадий</b>
PEtOH 26:1_26:4	OxPE 16:0_18:2	PS 16:0_20:3, SM d18:1/18:0, PE 16:0_22:6, PC 16:0_20:4, TG (16:0_18:0_18:1, 16:0_18:1_18:1, 18:0_22:6_8:0, 18:1_18:2_20:5), SM d16:0/18:0, PC 16:0_16:1
<b>ДОЯ, ПОЯ</b>	<b>Тератома, РЯ НСЗ, РЯ ВСЗ I-II стадий</b>	<b>ООВОЯ, кроме РЯ ВСЗ I-II стадий</b>
DG 16:0_18:1	SM d20:0/16:0	TG 16:0_18:0_18:4, DG 18:1_18:2
<b>РЯ ВСЗ III-IV стадий РЯ НСЗ, ПОЯ</b>	<b>Цистаденома, тератома, РЯ ВСЗ III-IV стадий</b>	<b>Цистаденома, тератома, РЯ ВСЗ I-II стадий</b>
OxTG 16:1_18:0_16:1	MGDG (16:0_20:2, 18:1_22:6)	PC 22:6_23:0, OxPC 18:0_18:4
<b>РЯ ВСЗ III-IV стадий, ЭКЯ, тератома</b>		<b>РЯ ВСЗ III-IV стадий, РЯ НСЗ</b>
TG 10:0_18:2_22:6		PC 16:0_18:3

Таким образом, с целью дифференциальной диагностики ООВОЯ (серозная доброкачественная цистаденома, эндометриоидная киста яичника, зрелая тератома, серозная пограничная опухоль, серозный рак яичников низкой степени злокачественности, серозный рак яичников высокой степени злокачественности I-II и III-IV стадий) рекомендовано определение липидного профиля крови методом ВЭЖХ-МС.

### 3.2.2 Исследование метаболизма липидов при пограничных опухолях яичников

#### Анализ дифференциально-диагностической точности определения липидного профиля сыворотки крови методом ВЭЖХ-МС у пациентов с серозными ПОЯ и РЯ ВСЗ

В возрастной структуре пациентов с диагностированным ЗНО яичников от 3 до 14% составляют женщины репродуктивного периода [33], [94]. Чтобы провести дифференциальную диагностику злокачественных и пограничных серозных новообразований яичников при помощи метода ВЭЖХ-МС были проанализированы 42 образца сыворотки крови пациентов до проведения хирургического или химиотерапевтического лечения. В исследование включены 28 пациентов с РЯ ВСЗ, 4 пациента с ПОЯ, получившие хирургическое лечение. 10 обследованных наблюдаемых добровольцев составили группу контроля (Рисунок 3.25) [3].

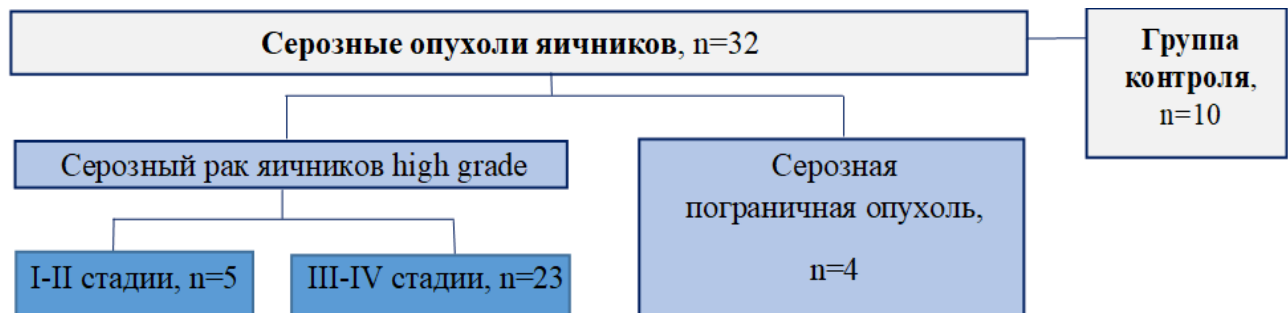


Рисунок 3.25 - Дизайн исследования

С помощью модифицированного метода Фолча из сыворотки крови экстрагировали липиды, которые затем анализировали с помощью ВЭЖХ-МС. Первым этапом было проведено сравнение образцов крови пациентов с ПОЯ и образцов крови наблюдаемых группы контроля, вторым этапом проведено сравнение изменений липидного профиля крови при ПОЯ и РЯ ВСЗ. Статистическая обработка данных произведена методом многофакторного анализа OPLS. Для выявления различий между выборками применялся непараметрический метод Манна-Уитни с поправкой Бенджамини-Хохберга.

При сравнении липидных профилей крови здоровых добровольцев и пациентов с ПОЯ, которые впервые подверглись хирургическому лечению по поводу имеющегося у них новообразования яичников (n=4) было выявлено 109 специфичных липидов, 25 из которых оказались значимыми для различия анализируемых групп (Рисунок 3.26, Таблица 3.25). При этом 23 липида из 25 были статистически значимо повышены примерно в 32,5–64 раза, 2 липида из 25 – снижены.

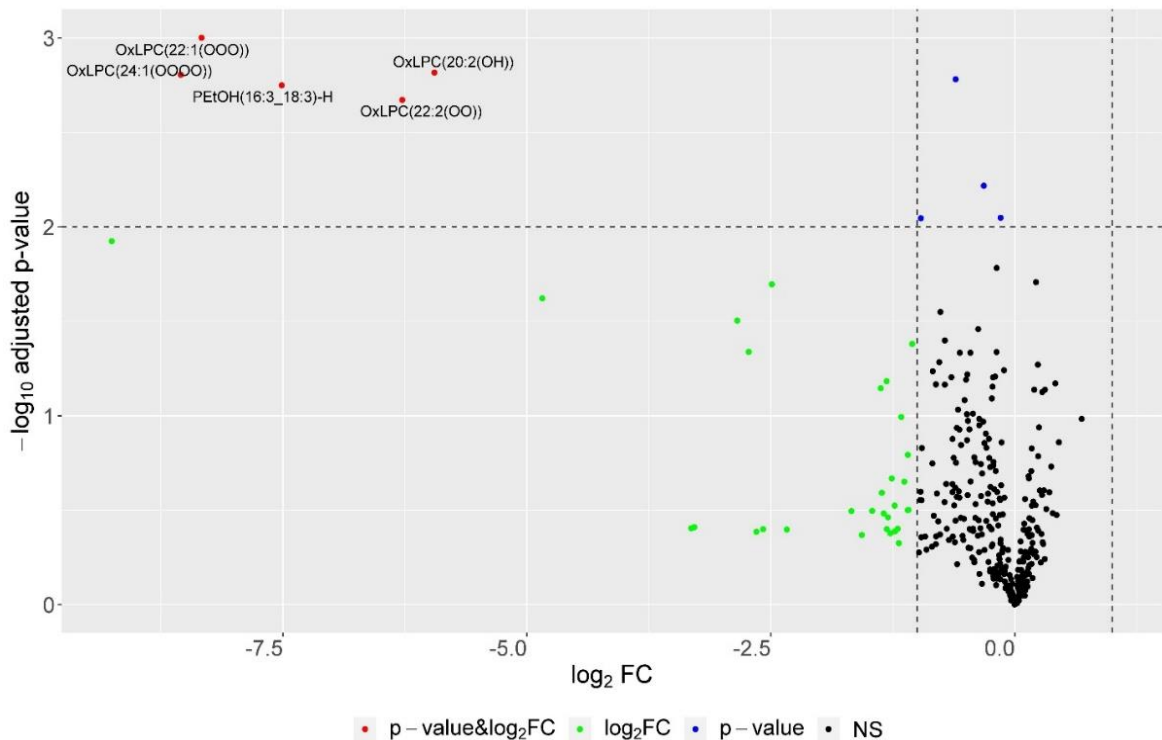


Рисунок 3.26 - График рассеяния, построенный по результатам сравнения уровней липидов в образцах крови пациентов с ПОЯ и обследуемых группы контроля. Отрицательные значения оси абсцисс соответствуют повышенному уровню липидов в группе с ПОЯ по сравнению с группой контроля, положительные значения – наоборот. Значения легенды:

- липиды, содержание которых достигло наиболее статистически значимых показателей при построении диаграммы (при  $\log_2 FC < 0$  - повышено, при  $\log_2 FC > 0$  - снижено при пограничных опухолях яичников);
- липиды, изменения которых оказались значимы без учета логарифма коэффициента кратного изменения;
- липиды, содержание которых статистически значимо изменено (при  $\log_2 FC < 0$  - повышено, при  $\log_2 FC > 0$  – снижено при пограничных опухолях яичников);
- липиды, изменение содержания которых не достигло статистической значимости ( $p > 0,05$ )

Таблица 3.25 - Липиды, уровни которых статистически значимо различаются в сыворотке крови пациентов с ПОЯ и у наблюдаемых группы контроля

Липид	Контроль, Ме (Q1; Q3)	ПОЯ, Ме (Q1; Q3)	p-value	p <sub>adj</sub>
BMP 17:2_17:2	3e-05 (2e-05; 3e-05)	0,01798 (0,0147; 0,02068)	0,012	0,411
CE 16:1	0,01194 (0,01161; 0,0125)	0,02062 (0,0181; 0,02286)	0,028	0,627
CE 18:2	0,01336 (0,01255; 0,01517)	0,01145 (0,01125; 0,01176)	0,02	0,533
LPC 22:5	0,01036 (0,00977; 0,01267)	0,02243 (0,01942; 0,02423)	0,009	0,345
LPC 22:6	0,00878 (0,00687; 0,01061)	0,01704 (0,01558; 0,02029)	0,042	0,627
OxLPC 20:1	0 (0; 1e-05)	0,00015 (1e-04; 2e-04)	0,024	0,588
OxLPC 20:2	0,00023 (0,00021; 0,00026)	0,01638 (0,0145; 0,0182)	0,002	0,122
OxLPC 22:1	6e-05 (5e-05; 7e-05)	0,01787 (0,01628; 0,01976)	0,001	0,122
OxLPC 22:2	0,00018 (0,00017; 2e-04)	0,01561 (0,01371; 0,01782)	0,002	0,122
OxLPC 24:1	5e-05 (3e-05; 5e-05)	0,01698 (0,01531; 0,01944)	0,002	0,122
PC 10:0_10:0	1e-05 (1e-05; 1e-05)	7e-05 (4e-05; 9e-05)	0,046	0,627

Продолжение Таблицы 3.25

Липид	Контроль, Ме (Q1; Q3)	ПОЯ, Ме (Q1; Q3)	p-value	p <sub>adj</sub>
PC 16:0_16:1	0,00925 (0,00866; 0,01539)	0,02142 (0,01921; 0,02258)	0,04	0,627
PC 16:0_20:4	0,0092 (0,00878; 0,0103)	0,01515 (0,01423; 0,01595)	0,002	0,122
PC 16:0_18:0	0,01233 (0,01153; 0,01316)	0,01673 (0,01527; 0,01735)	0,035	0,627
PC 18:1_22:6	0,01229 (0,01091; 0,01382)	0,01627 (0,0153; 0,01702)	0,006	0,298
PE 14:0_14:0	6e-05 (6e-05; 7e-05)	0,00052 (4e-04; 0,00062)	0,031	0,627
PEt 16:3_18:3	1e-04 (7e-05; 0,00011)	0,01598 (0,01467; 0,01749)	0,002	0,122
PEt 21:2_21:2	0,01241 (0,01193; 0,01291)	0,01442 (0,01393; 0,01462)	0,046	0,627
SM d18:1/18:0	0,00887 (0,00839; 0,01022)	0,01068 (0,01027; 0,01104)	0,016	0,517
SM d18:1/20:3	0,00956 (0,00901; 0,01064)	0,01074 (0,01062; 0,01087)	0,009	0,345
PEt 46:10	0,00234 (0,00116; 0,0041)	0,01478 (0,0122; 0,01763)	0,02	0,533
PI 34:3	0,00953 (0,0089; 0,01071)	0,01441 (0,01406; 0,01601)	0,046	0,627

На основании полученных данных была построена модель со следующими параметрами:  $R^2=0,88$ ,  $Q^2=0,66$ ; Рисунке 3.27.

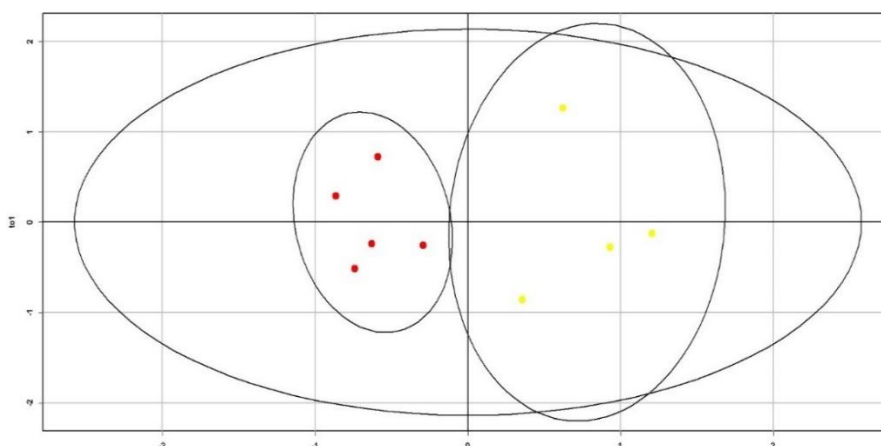


Рисунок 3.27 - График счетов, построенный по результатам OPLS-анализа МС-данных (РПИ), полученных для образцов крови пациентов с I-II стадиями РЯ (красные точки) и ПОЯ (желтые точки)

Среди наиболее значимо различающихся липидов преобладали глицерофосфолипиды, в первую очередь, окисленные формы лизофосфатидилхолинов и плазмалогены. Липиды, использованные для создания фенотипической классификации и показатели статистической значимости (по значениям VIP) приведены в Таблице 3.26.

Таблица 3.26 - Липиды, наиболее значимые для построения дифференцирующих моделей

Липиды	РЯ ВСЗ, VIP	I-II стадии	ПОЯ, VIP
PEtOH 16:3_18:3	2,71	2,62	2,69
OxLPC 22:2	2,72	2,60	2,74
OxLPC 22:1 O	2,75	2,59	2,93
OxLPC 24:1	2,77	2,59	2,92
BMP17:2_17:2	2,39	2,59	2,96
OxLPC 20:2 OH	2,72	2,58	2,76
Plasmenyl-PE P-18:0/18:2	2,42	2,33	-

Продолжение Таблицы 3.26

Липиды	РЯ ВСЗ, VIP	I–II стадии	ПОЯ, VIP
PEtOH 46:10	2,07	2,25	2,49
PG 18:1_18:2	2,01	2,20	-
PG 13:0_22:5	2,03	2,14	-
Plasmenyl-PE P-18:0/18:1	2,15	2,04	-
Plasmenyl-PE P-18:1/20:4	1,97	2,02	-

Было проведено сравнение липидного профиля крови пациентов с ПОЯ и РЯ ВСЗ ранних и распространенных стадий. На основании наиболее значимо различимых липидов были построены прогностические модели, показатели которых приведены в Таблице 3.27.

Таблица 3.27 - Характеристики разработанных OPLS-DA моделей

Модель	AUC	Пороговое значение	Чувствительность, %	Специфичность, %
Контроль – ПОЯ	1	1,18	100	100
РЯ I–II – ПОЯ	1	1,93	100	100
РЯ III–IV – ПОЯ	1	2,26	100	100

Показано, что профиль крови пациентов с ПОЯ отличим от такового при серозном РЯ ВСЗ как ранних, так и распространенных стадий. Однако несмотря на различия между группами, выявленные с помощью теста Манна–Уитни, параметры OPLS-модели, построенной для поиска различий липидного профиля крови пациентов с III-IV стадиями РЯ ВСЗ и ПОЯ, не достигли классификационной значимости ( $R_2=0,91$ ,  $Q_2=0,36$ ), что может быть обусловлено малой выборкой пациентов, составивших данную группу ( $n=4$ ).

### Метаболизм липидов при серозных ПОЯ

В связи с отсутствием единого представления о канцерогенезе ПОЯ, а также сложностях дифференциальной диагностики данных новообразований от других серозных ООВОЯ проведено исследование наличия молекулярных особенностей ПОЯ, характеризующих развитие данных серозных опухолей яичников. Для этого при помощи биоинформационного анализа была изучена роль липидов, дифференциально-диагностическая значимость которых была показана выше (пункт 3.2.1 данной главы). При помощи метода ВЭЖХ-МС были изучены образцы плазмы крови 30 пациентов с серозными ПОЯ, 10 образцов крови пациентов с ранними стадиями РЯ ВСЗ, 16 образцов крови пациентов с РЯ НСЗ и 26 образцов крови пациентов группы контроля. В первую очередь проведен анализ наличия изменений липидного профиля при ПОЯ (Таблица 3.28). При ПОЯ было отмечено повышение 7 липидов, остальные 19 липидов были значимо снижены.

Таблица 3.28 - Липиды, уровни которых статистически значимо отличаются в плазме крови пациентов с ПОЯ и наблюдаемых группы контроля (РПИ)

Липид	Контроль, Ме (Q1; Q3)	ПОЯ, Ме (Q1; Q3)	р	Изменение при ПОЯ
CE 18:3	2.03e+06 (1.61e+06;3.05e+06)	1.28e+06 (8.34e+05;2.3e+06)	0,012782	↓
DG 16:0_18:1	1.7e+05 (1.15e+05;2.26e+05)	2.48e+05 (1.65e+05;3.64e+05)	0,044924	↑
DG 18:1_18:2	4.36e+05 (3.37e+05;5.99e+05)	6.7e+05 (4.71e+05;9.02e+05)	0,009354	↑
ОxTG 16:1_18:0_16:1	5.56e+05 (4.56e+05;6.27e+05)	6.08e+05 (5.78e+05;7.14e+05)	0,014145	↑
PC 16:0_20:3	5.52e+07 (4.66e+07;6.04e+07)	4.36e+07 (2.61e+07;5.41e+07)	0,021948	↓
PC 16:0_20:5	2.1e+07 (1.62e+07;3.41e+07)	1.43e+07 (1.29e+07;1.69e+07)	0,000277	↓
PC 18:3_20:5	2.46e+06 (2.12e+06;4.43e+06)	2e+06 (1.63e+06;2.76e+06)	0,014145	↓
PEtOH 26:1_26:4	1.11e+05 (8.92e+04;1.33e+05)	1.29e+05 (1.15e+05;1.39e+05)	0,033166	↑
SM d16:1/14:0	3.74e+05 (3.04e+05;4.35e+05)	2.78e+05 (2.27e+05;3.71e+05)	0,003602	↓
SM d16:1/16:0	1e+07 (8.05e+06;1.09e+07)	8.35e+06 (7.53e+06;9.95e+06)	0,048856	↓
SM d18:1/20:0	1.2e+07 (1.08e+07;1.27e+07)	1.05e+07 (9.54e+06;1.18e+07)	0,041257	↓
SM d18:1/22:1	2.04e+07 (1.9e+07;2.21e+07)	1.84e+07 (1.61e+07;2.05e+07)	0,028522	↓
SM d18:2/14:0	9.04e+05 (7.12e+05;1.04e+06)	7.25e+05 (5.91e+05;8.47e+05)	0,010395	↓
TG 16:0_18:0_18:4	8.72e+05 (7.17e+05;9.83e+05)	9.95e+05 (8.96e+05;1.08e+06)	0,005405	↑
TG 16:0_18:2_18:2	4.14e+07 (3.31e+07;4.52e+07)	4.56e+07 (3.99e+07;5.36e+07)	0,004296	↑
TG 16:1_18:1_18:1	2.11e+05 (1.67e+05;3.5e+05)	3.39e+05 (2.73e+05;3.9e+05)	0,014145	↑
TG 16:1_18:2_22:6	1.96e+06 (1.52e+06;3.06e+06)	1.35e+06 (9.62e+05;2.13e+06)	0,041257	↓
TG 16:1_22:4_8:0	6.22e+06 (5.68e+06;7.26e+06)	5.53e+06 (4.29e+06;6.36e+06)	0,044924	↓
TG 18:1_18:1_22:6	1.65e+06 (1.08e+06;1.89e+06)	1.16e+06 (9.85e+05;1.49e+06)	0,026453	↓
TG 18:1_18:2_18:4	2.17e+05 (1.93e+05;2.4e+05)	1.94e+05 (1.67e+05;2.17e+05)	0,036226	↓
TG 18:1_18:2_22:6	2.57e+06 (2.06e+06;3.7e+06)	2.13e+06 (1.7e+06;2.58e+06)	0,041257	↓
TG 18:1_18:3_18:4	9.45e+05 (6.77e+05;1.34e+06)	6.57e+05 (4.87e+05;1.01e+06)	0,044924	↓
TG 18:2_18:2_22:6	2.16e+06 (1.73e+06;3.11e+06)	1.7e+06 (1.15e+06;2.26e+06)	0,024111	↓
TG 18:2_18:3_20:5	2.05e+05 (1.55e+05;3.85e+05)	4.64e+04 (0;2.09e+05)	0,003394	↓
TG 18:2_20:4_20:5	5.71e+05 (2.64e+05;9.47e+05)	1.2e+04 (0;5.68e+05)	0,003197	↓
TG 18:2_20:5_22:6	1.2e+05 (0;2.91e+05)	0 (0;9.38e+04)	0,004053	↓

На основании данных липидов была построена модель (AUC=0,82, чувствительность – 93%, специфичность – 62%; Рисунок 3.28).

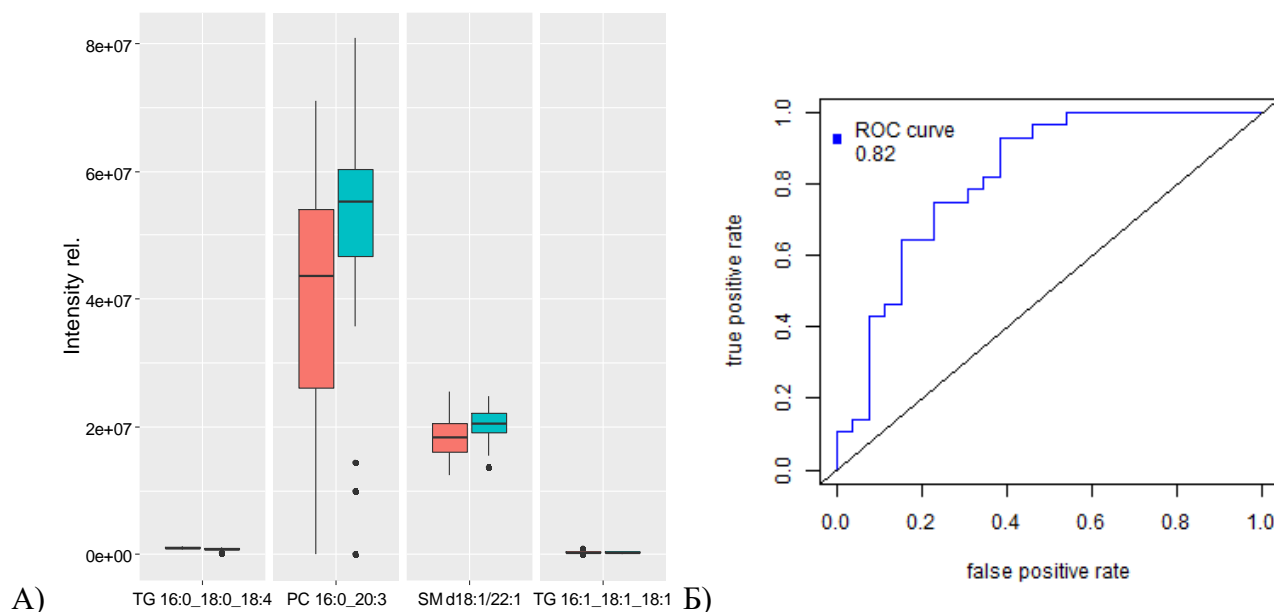


Рисунок 3.28– Липиды, дифференцирующие образцы плазмы крови наблюдаемых группы контроля от образцов крови пациентов с ПОЯ: А) Диаграммы размаха (РПИ; оранжевая диаграмма – ПОЯ, зеленая – контроль), Б) ROC-кривая

Было показано, что наиболее выраженные изменения метаболизма липидов при серозной ПОЯ по сравнению с их обменом у здорового человека проявляются в изменении путей, отвечающих за синтез глицеролипидов и линолеиновой кислоты (Таблица 3.29).

Таблица 3.29 - Пути, которые включают в себя маркерные липиды со статистически значимо различными уровнями в плазме крови между пациентами группы контроля и пациентами с ПОЯ

Метаболический путь	n соединений	n маркеров	P	FDR	Влияние
Глицеролипиды	16	2	0,003	0,23	0,01
Линолевая кислота	5	2	0,03	1,00	0
Альфа-линоленовая кислота	13	1	0,06	1,00	0
Сфинголипиды	21	1	0,10	1,00	0
Арахидоновая кислота	36	1	0,17	1,00	0
Глицерофосфолипиды	36	1	0,17	1,00	0,09
Биосинтез стероидов	42	1	0,22	1,00	0

При ПОЯ было отмечено повышение 9 липидов, остальные 3 липида были снижены по сравнению с их содержанием при РЯ НСЗ (Таблица 3.30).

Таблица 3.30 - Липиды, уровни которых статистически значимо различаются в плазме крови пациентов при ПОЯ и при РЯ НСЗ (РПИ)

Липид	РЯ НСЗ, Ме (Q1; Q3)	ПОЯ, Ме (Q1; Q3)	р	Изменение при ПОЯ
CE 18:1	2.69e+07 (2.47e+07;2.8e+07)	2.84e+07 (2.71e+07;3.04e+07)	0,018551	↑
LPC 16:0	4.42e+07 (3.8e+07;6.49e+07)	6.63e+07 (5.13e+07;7.22e+07)	0,019168	↑
LPC 16:0	7.16e+06 (6.22e+06;1e+07)	1.02e+07 (8.32e+06;1.1e+07)	0,013035	↑
LPC 16:1	8.69e+05 (5.71e+05;1.22e+06)	1.22e+06 (9.57e+05;1.46e+06)	0,035953	↑
PC 16:0_16:0	5.86e+06 (5.07e+06;6.38e+06)	5.14e+06 (4.57e+06;5.69e+06)	0,031686	↓
PC 16:0_18:3	4.18e+05 (3.74e+05;4.54e+05)	3.53e+05 (3.27e+05;3.99e+05)	0,029716	↓
PC 18:1_22:6	2.06e+06 (1.78e+06;2.61e+06)	2.55e+06 (2.3e+06;2.78e+06)	0,035953	↑
PEtOH 22:0_18:1	1.85e+07 (1.7e+07;2.28e+07)	2.24e+07 (1.95e+07;2.53e+07)	0,031686	↑
Plasmanyln-PC O-18:0/18:1	1.1e+06 (9.13e+05;1.41e+06)	1.56e+06 (1.16e+06;2.14e+06)	0,045927	↑
Plasmenyl-PC P- 20:0/20:4	2.67e+06 (2.25e+06;3.34e+06)	3.31e+06 (2.85e+06;3.82e+06)	0,021341	↑
Plasmenyl-PC P- 22:1/18:2	1.35e+06 (1.06e+06;1.46e+06)	1.71e+06 (1.25e+06;2.11e+06)	0,033763	↑
TG 18:1_18:2_18:4	2.45e+05 (1.92e+05;2.93e+05)	1.94e+05 (1.67e+05;2.17e+05)	0,033763	↓

На основании данных липидов была построена модель (AUC=0,83, чувствительность – 88%, специфичность – 71%, Рисунок 3.29)

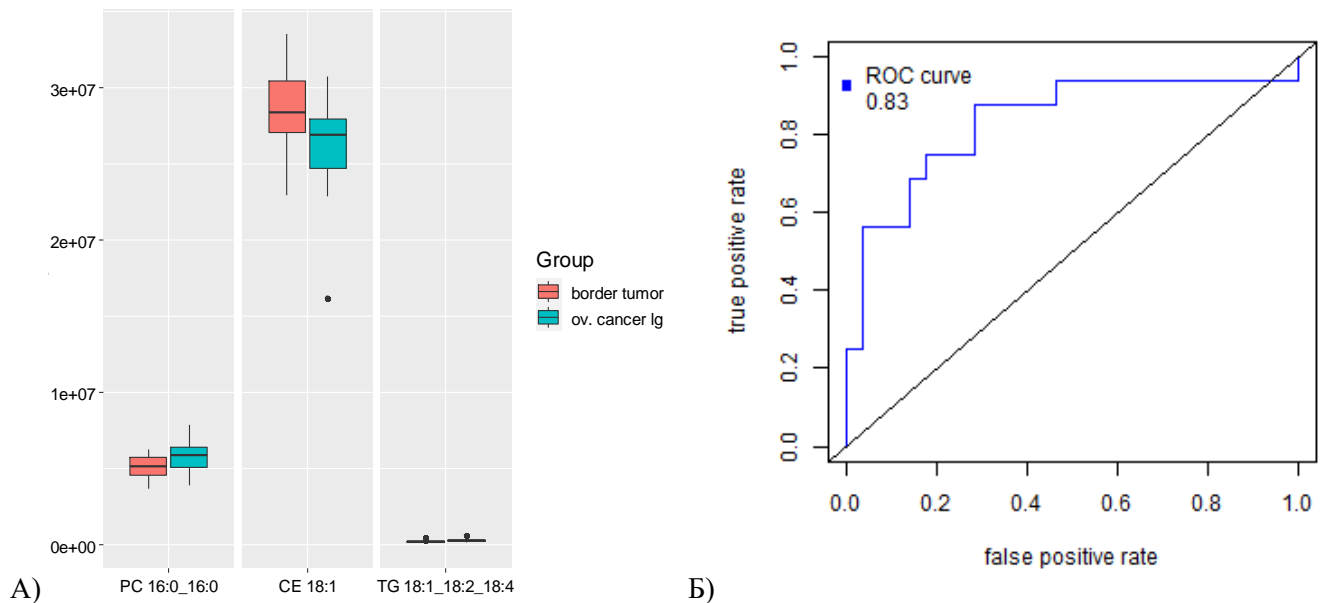


Рисунок 3.29 - Липиды, дифференцирующие образцы плазмы крови пациентов с РЯ НСЗ от образцов крови пациентов с ПОЯ: А) Диаграммы размаха: РПИ; оранжевая диаграмма – ПОЯ, зеленая – РЯ НСЗ, Б) ROC-кривая

Сравнительная характеристика изменений маркерных липидов крови при ПОЯ и НСЗ приведена на Рисунке 3.30.

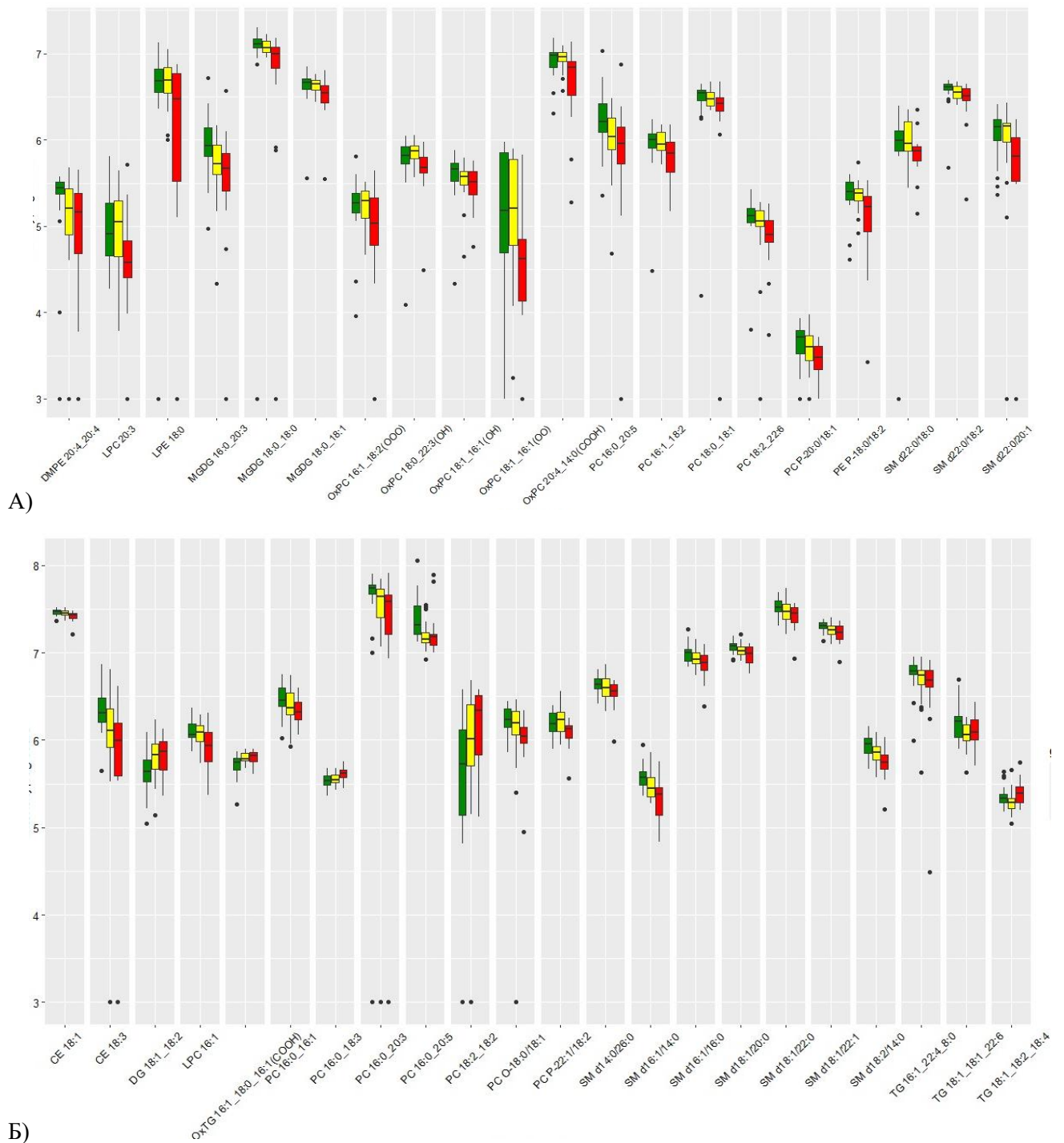


Рисунок 3.30 - Диаграммы размаха в логарифмической шкале уровней интенсивности липидов, содержание которых статистически значимо изменяется как минимум для двух пар сравнений, образованных группами «Контроль» (зелёные), «ПОЯ» (жёлтые), «РЯ НСЗ» (красные), А) РОИ, Б) РПИ

Было показано, что при ПОЯ и РЯ НСЗ различается метаболизм глицеролипидов и глицерофосфолипидов (Таблица 3.31).

Таблица 3.31 - Пути, которые включают в себя липиды со статистически значимо различными уровнями в плазме крови (маркеры) между пациентами с ПОЯ и РЯ НСЗ

Метаболический путь	п соединений	п маркеров	P	FDR	Влияние
Глицеролипиды	16	2	0,004	0,36	0,01
Глицерофосфолипиды	36	2	0,02	0,88	0,11
Линолевая кислота	5	1	0,03	0,89	0
Альфа-линоленовая кислота	13	1	0,08	1,00	0
Липиды с простой эфирной связью	20	1	0,12	1,00	0,11
Сфинголипиды	21	1	0,13	1,00	0
Арахидоновая кислота	36	1	0,21	1,00	0
Биосинтез стероидов	42	1	0,24	1,00	0

При ПОЯ было отмечено повышение Plasmeyl-PC (P-16:0/18:1), остальные 19 липидов были снижены по сравнению с их содержанием при I-II стадиях РЯ ВСЗ (Таблица 3.32).

Таблица 3.32 - Липиды, уровни которых статистически значимо различаются в плазме крови пациентов с ПОЯ и пациентов с ранними стадиями РЯ ВСЗ (РПИ)

Липид	РЯ ВСЗ I-II стадий, Me (Q1; Q3)	ПОЯ, Me (Q1; Q3)	p
CerP d18:1/22:0	7.58e+06 (7.24e+06;9.36e+06)	6.59e+06 (5.48e+06;8.45e+06)	0,0436
PC 22:6_23:0	5.84e+05 (5.53e+05;6.19e+05)	5.07e+05 (4.52e+05;5.8e+05)	0,047373
Plasmeyl-PC P-16:0/18:1	1.65e+06 (1.1e+06;2.77e+06)	2.7e+06 (2.08e+06;3.5e+06)	0,013073
SM d18:1/16:0	4.96e+07 (4.54e+07;5.39e+07)	4.26e+07 (3.38e+07;4.7e+07)	0,008572
SM d18:1/22:2	7.19e+05 (6.41e+05;7.95e+05)	5.03e+05 (4.34e+05;6.76e+05)	0,004323
SM d18:1/24:1	6.49e+06 (4.43e+06;9.69e+06)	3.11e+06 (0;5.28e+06)	0,009549
SM d18:2/16:0	1.82e+07 (1.74e+07;2.24e+07)	1.57e+07 (1.3e+07;2.03e+07)	0,047373
SM d18:2/24:0	6.26e+07 (5.58e+07;8.03e+07)	5.24e+07 (4.76e+07;6.22e+07)	0,028226
TG 10:0_18:2_22:6	4.03e+06 (3.38e+06;4.51e+06)	3.25e+06 (2.76e+06;3.98e+06)	0,0436
TG 12:0_18:2_18:3	3.14e+07 (2.69e+07;3.95e+07)	2.62e+07 (2.33e+07;3.13e+07)	0,035281
TG 16:0_18:2_22:6	9.86e+06 (8.28e+06;1.04e+07)	7.39e+06 (5.25e+06;9.23e+06)	0,025768
TG 16:1_18:2_22:6	1.94e+06 (1.8e+06;2.27e+06)	1.35e+06 (9.62e+05;2.13e+06)	0,033725
TG 18:0_18:4_20:5	1.57e+05 (1.38e+05;1.7e+05)	1.15e+05 (8.97e+04;1.54e+05)	0,004868
TG 18:0_22:6_8:0	1.23e+07 (1.08e+07;1.36e+07)	1.01e+07 (9.05e+06;1.19e+07)	0,032495
TG 18:1_18:1_20:5	2.64e+05 (2.3e+05;2.97e+05)	2.19e+05 (1.92e+05;2.53e+05)	0,040076
TG 18:1_18:1_22:6	1.84e+06 (1.4e+06;2.15e+06)	1.16e+06 (9.85e+05;1.49e+06)	0,025768
TG 18:1_18:2_18:4	2.26e+05 (1.99e+05;2.76e+05)	1.94e+05 (1.67e+05;2.17e+05)	0,0436

Продолжение Таблицы 3.32

Липид	РЯ ВСЗ I-II стадий, Me (Q1; Q3)	ПОЯ, Me (Q1; Q3)	p
TG 18:1_18:2_22:6	3.16e+06 (2.56e+06;3.86e+06)	2.13e+06 (1.7e+06;2.58e+06)	0,002638
TG 18:1_20:4_20:5	1.37e+05 (1.21e+05;1.61e+05)	1.07e+05 (8.34e+04;1.23e+05)	0,006872
TG 18:2_18:2_22:6	2.63e+06 (1.99e+06;2.86e+06)	1.7e+06 (1.15e+06;2.26e+06)	0,005471

На основании данных липидов была построена модель (AUC=0,92, Se = 100%, Sp = 75%, Рисунок 3.31).

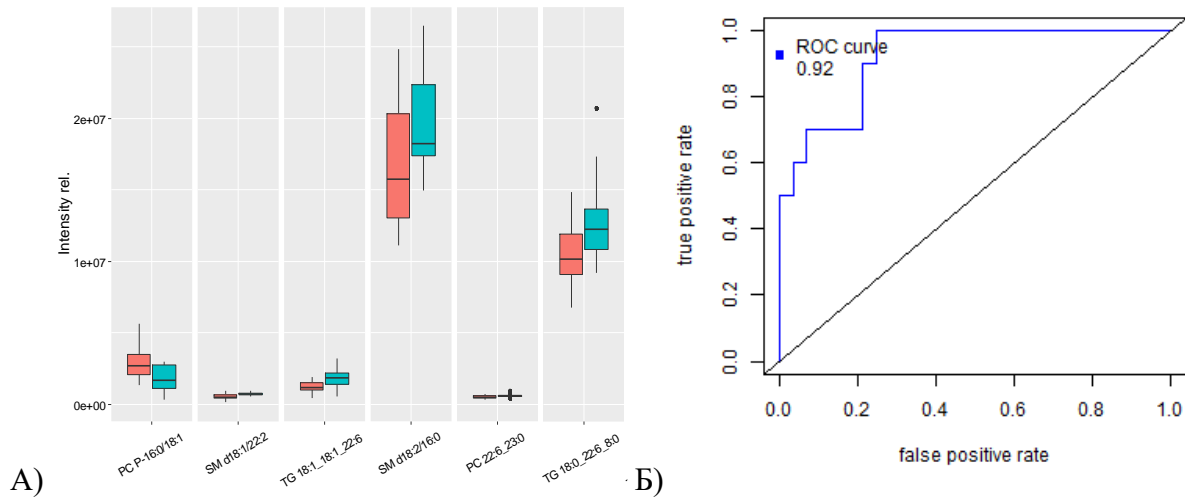


Рисунок 3.31 – Липиды, дифференцирующие I-II стадии РЯ ВСЗ от ПОЯ (РПИ): А) ROC-кривая; Б) диаграммы размаха (оранжевые – ПОЯ, зеленые – I-II стадии РЯ ВСЗ)

Сравнительная характеристика изменений маркерных липидов крови при ПОЯ и I-II стадиях РЯ ВСЗ в отличие от их уровней в группе контроля приведена на Рисунке 3.32.

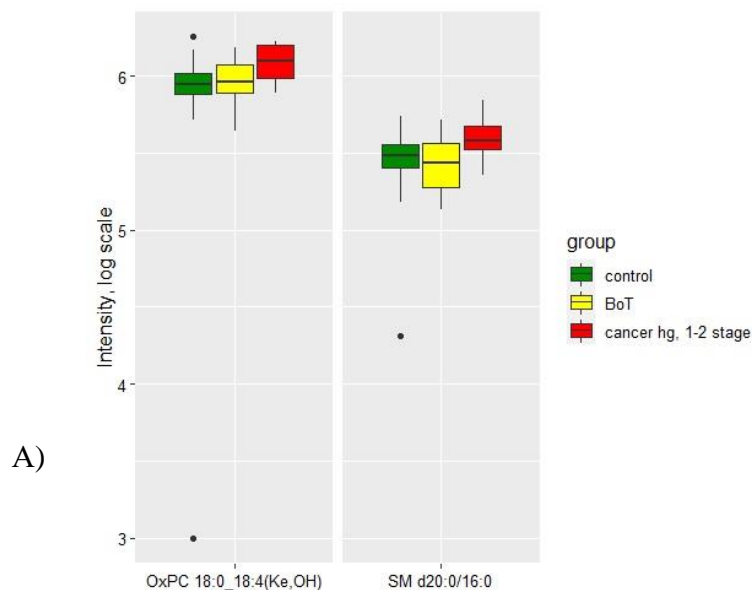
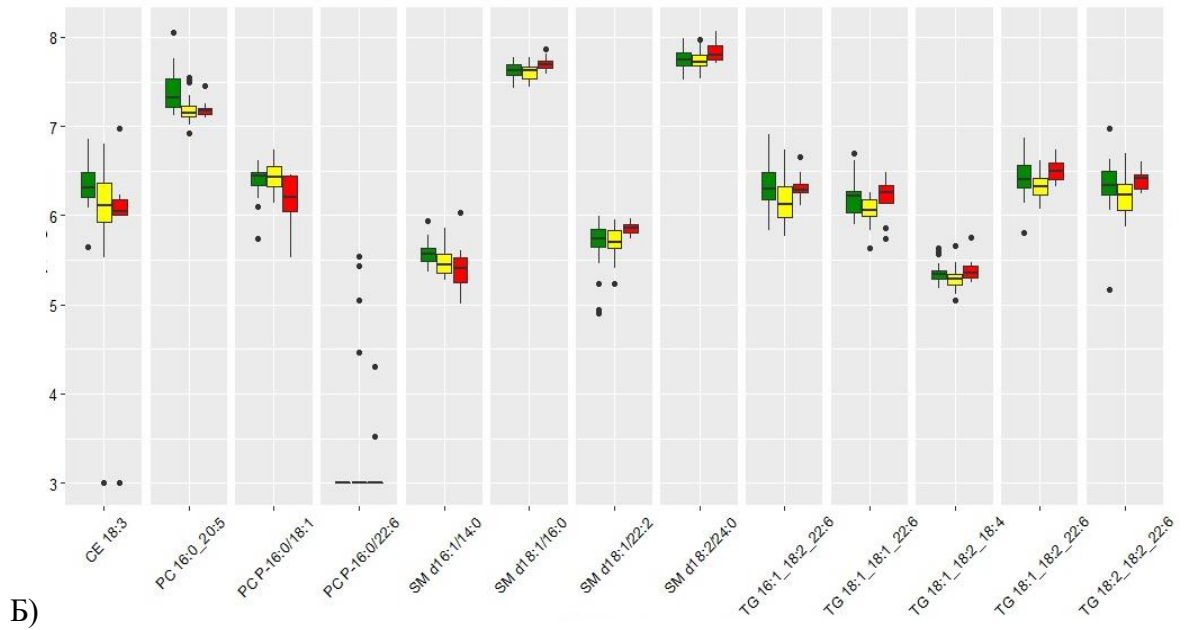


Рисунок 3.32 - Диаграммы размаха в логарифмической шкале уровней интенсивности липидов, содержание которых статистически значимо изменяется как минимум для двух пар сравнений, образованных группами «Контроль» (зелёные), «ПОЯ» (жёлтые), «ранние стадии РЯ ВСЗ» (красные), А) РОИ, Б) РПИ



Б)

Продолжение Рисунка 3.32

Наиболее значимые изменения активности метаболических путей при ранних стадиях РЯ ВСЗ проявляются в задействованности пути обмена сфинголипидов, а также глицерофосфолипидов и глицеролипидов (Таблица 3.33, Рисунок 3.33).

Таблица 3.33 - Пути, которые включают в себя липиды со статистически значимо различными уровнями в плазме крови (маркеры) между пациентами с ПОЯ и ранней стадией РЯ ВСЗ

Метаболический путь	п соединений	п маркеров	P	FDR
Сфинголипиды	21	2	0,002	0,14
Глицеролипиды	16	1	0,05	1,00
Глицерофосфолипиды	36	1	0,11	1,00

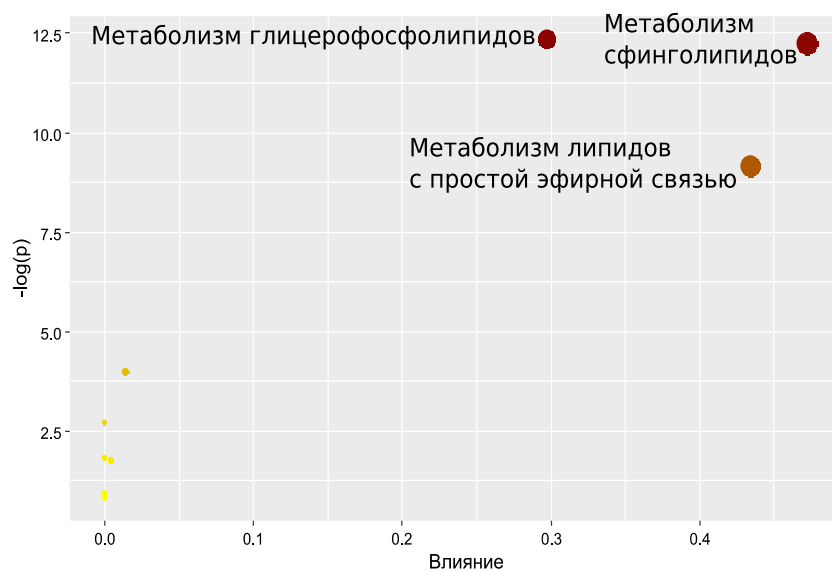


Рисунок 3.33 - Сравнение активности метаболических путей при РЯ ВСЗ и ПОЯ. Примечание: диаметр сфер соответствует степени задействованности сигнального пути в патогенезе ПОЯ и РЯ ВСЗ

При сравнении образцов крови пациентов с ПОЯ, РЯ НСЗ и РЯ ВСЗ с образцами крови наблюдаемых группы контроля были выявлены статистически значимые изменения липидов при каждом типе серозных опухолей яичников. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования определения липидных профилей не только для диагностики ПОЯ, РЯ НСЗ и ранних стадий РЯ ВСЗ, но также для исследования их роли в развитии данных опухолей.

### 3.2.3 Исследование липидного профиля крови пациентов с I-II стадиями рака яичников высокой степени злокачественности

Для изучения возможность выявления серозного РЯ ВСЗ на ранних (IA–IC) стадиях при помощи ВЭЖХ-МС липидного профиля сыворотки крови был отобран 41 образец сыворотки крови пациентов с РЯ ВСЗ IA–IC (n=5) и IIА–IIВ стадиями (n=23) по классификации FIGO, а также наблюдаемых группы контроля (n=13) [2], [132].

Была изучена возможность выявления РЯ ВСЗ на IA–IC стадиях посредством двухэтапного попарного сравнения выборок с применением многомерного OPLS-анализа. Для выявления пациентов со злокачественным серозным новообразованием яичников построили OPLS-модель по данным, полученным в результате МС-анализа образцов сыворотки, взятых у больных I–IV стадией РЯ (n=28) и наблюдаемых из группы контроля (n=13). Экстракты липидов сыворотки крови получали в соответствии с модифицированным методом Фолча. Анализ состава образцов проводили с помощью масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением. Непараметрическим методом Манна–Уитни выявлены статистически значимо различимые липиды. При использовании OPLS-DA выполнялось построение дифференциальных OPLS-моделей (Таблицы 3.34, 3.35).

Таблица 3.34 - Липиды, уровни которых статистически значимо различаются в сыворотке крови пациентов группы контроля и РЯ IA–IC стадии

Липид	Контроль, Me (Q1; Q3)	РЯ IA–IC стадий, Me (Q1; Q3)	p-value	P <sub>adj</sub>
LPC 17:0	0,01681 (0,01383; 0,01898)	0,00563 (0,00495; 0,00573)	< 0,001	< 0,001
LPC 18:0	0,01688 (0,01447; 0,0187)	0,00591 (0,00515; 0,00704)	< 0,001	< 0,001
LPC 20:0	0,01511 (0,01301; 0,01722)	0,00737 (0,00584; 0,00826)	< 0,001	< 0,001
LPC 20:2	0,01808 (0,01479; 0,01899)	0,00604 (0,00509; 0,00773)	< 0,001	< 0,001
Plasmeyl-PE P-18:0/18:2	0,01893 (0,01646; 0,02324)	0,0041 (0,00393; 0,00719)	< 0,001	< 0,001
Plasmeyl-PE P-18:0/20:4	0,01481 (0,0139; 0,02115)	0,00584 (0,00447; 0,00726)	< 0,001	< 0,001
Plasmeyl-PE P-18:0/18:1	0,01577 (0,01535; 0,02083)	0,00694 (0,00618; 0,00857)	< 0,001	< 0,001
Plasmeyl-PE P-18:0/20:4	0,01671 (0,01508; 0,02091)	0,00647 (0,00578; 0,00654)	< 0,001	< 0,001
LPC 15:0	0,01489 (0,01123; 0,01944)	0,00551 (0,00306; 0,00638)	< 0,001	0,004

Продолжение Таблицы 3.34

Липид	Контроль, Ме (Q1; Q3)	РЯ IA–IC стадий, Ме (Q1; Q3)	p-value	P <sub>adj</sub>
Plasmenyl-PE P-18:0/20:3	0,01664 (0,01319; 0,01704)	0,00773 (0,0077; 0,00788)	< 0,001	< 0,001
Plasmenyl-PE P-18:1/22:6	0,01662 (0,01376; 0,02333)	0,00553 (0,004; 0,00623)	< 0,001	0,001
Plasmenyl-PC P-16:0/18:2	0,01522 (0,01334; 0,01899)	0,00929 (0,00813; 0,01086)	< 0,001	0,001
PEtOH 20:1_22:2	0,01547 (0,01331; 0,01665)	0,01046 (0,01037; 0,0107)	< 0,001	0,002
PG 18:1_18:2	0,01636 (0,01294; 0,02373)	0,00429 (0,00401; 0,00566)	< 0,001	0,002
Plasmany-LPC O-16:0	0,01639 (0,01419; 0,01789)	0,00474 (0,00471; 0,0049)	< 0,001	0,002
Plasmany-PC O-18:0/18:3	0,0152 (0,01268; 0,01588)	0,00873 (0,00802; 0,01061)	< 0,001	0,002
Plasmenyl-PC P-16:1/18:0	0,01601 (0,01378; 0,02007)	0,00811 (0,00739; 0,00822)	< 0,001	0,002
SM d20:0/18:4	0,01666 (0,01412; 0,02167)	0,00698 (0,00512; 0,00869)	< 0,001	0,002
PS 37:5	0,01554 (0,01271; 0,02226)	0,00669 (0,00615; 0,0073)	< 0,001	0,002
LPC 14:0	0,00263 (0,00155; 0,00304)	0,00059 (0,00045; 0,00091)	< 0,001	0,003
PG 13:0_22:5	0,0161 (0,01311; 0,02701)	0,00503 (0,00435; 0,00663)	< 0,001	0,003
Cer-NS d18:1/24:0	0,01203 (0,0106; 0,01402)	0,00401 (0,00308; 0,00491)	< 0,001	0,004
Plasmenyl-PE P-16:1/22:6	0,01669 (0,01348; 0,02276)	0,00553 (0,00499; 0,00594)	< 0,001	0,004
Plasmenyl-PC P-16:0/18:1	0,01452 (0,01226; 0,01554)	0,00901 (0,00835; 0,01029)	< 0,001	0,005
PC 14:0_18:2	0,01928 (0,01307; 0,02437)	0,00735 (0,00473; 0,0088)	< 0,001	0,006

Таблица 3.35 - Липиды, уровни которых статистически значимо различаются в сыворотке крови пациентов группы контроля и РЯ ПА–IVA стадии

Липид	Контроль, Ме (Q1; Q3)	РЯ ПА–IVB стадий, Ме (Q1; Q3)	p-value	P <sub>adj</sub>
BMP 17:2_17:2	3e-05 (2e-05; 3e-05)	0,01109 (0,00755; 0,01718)	< 0,001	< 0,001
LPC 18:0	0,01688 (0,01447; 0,0187)	0,01016 (0,00887; 0,0116)	< 0,001	< 0,001
LPC 18:2	0,01745 (0,01322; 0,01832)	0,01027 (0,0084; 0,01165)	< 0,001	< 0,001
OxLPC 20:1	0 (0; 1e-05)	0,00012 (7e-05; 0,00016)	< 0,001	< 0,001
OxLPC 22:1	6e-05 (5e-05; 7e-05)	0,01455 (0,0138; 0,01574)	< 0,001	< 0,001
OxLPC 22:2	0,00018 (0,00017; 2e-04)	0,01381 (0,01251; 0,01633)	< 0,001	< 0,001
OxLPC 24:1	5e-05 (3e-05; 5e-05)	0,01479 (0,01379; 0,0156)	< 0,001	< 0,001
PC 16:1_18:3	0,01852 (0,01563; 0,02321)	0,00683 (0,00447; 0,01022)	< 0,001	< 0,001
PC 18:0_20:5	0,0148 (0,0137; 0,0162)	0,01138 (0,00983; 0,01254)	< 0,001	< 0,001
PC 18:0_20:2	0,01521 (0,01234; 0,01646)	0,00892 (0,00808; 0,01072)	< 0,001	< 0,001
PC 18:2_22:6	0,01627 (0,01422; 0,01827)	0,00924 (0,00715; 0,01085)	< 0,001	< 0,001
PE 14:0_14:0	6e-05 (6e-05; 7e-05)	0,00036 (0,00025; 0,00054)	< 0,001	< 0,001
PEtOH 16:3_18:3	1e-04 (7e-05; 0,00011)	0,01464 (0,0129; 0,01651)	< 0,001	< 0,001
PEtOH 20:1_22:2	0,01547 (0,01331; 0,01665)	0,01152 (0,00949; 0,01228)	< 0,001	< 0,001
PEtOH 46:10	0,00234 (0,00116; 0,0041)	0,01074 (0,00881; 0,01411)	< 0,001	< 0,001
PI 36:4	0,01484 (0,01442; 0,01608)	0,01097 (0,00951; 0,01286)	< 0,001	< 0,001

Продолжение Таблицы 3.35

Липид	Контроль, Ме (Q1; Q3)	РЯ IIА–IVB стадии, Ме (Q1; Q3)	p-value	P <sub>adj</sub>
Plasmanyl-LPC O-16:0	0,01639 (0,01419; 0,01789)	0,01009 (0,00694; 0,01288)	< 0,001	< 0,001
Plasmenyl-PE P-18:0/18:2	0,01893 (0,01646; 0,02324)	0,00803 (0,00514; 0,00904)	< 0,001	< 0,001
Plasmenyl-PE P-18:0/18:1	0,01577 (0,01535; 0,02083)	0,00848 (0,00644; 0,01168)	< 0,001	< 0,001
Plasmenyl-PE P-18:0/20:4	0,01671 (0,01508; 0,02091)	0,00797 (0,00617; 0,01185)	< 0,001	< 0,001
SM d18:1/18:0	0,00887 (0,00839; 0,01022)	0,01372 (0,01093; 0,01577)	< 0,001	< 0,001
SM d18:1/20:3	0,00956 (0,00901; 0,01064)	0,01338 (0,0111; 0,01492)	< 0,001	< 0,001
SM d18:1/18:1	0,01116 (0,01047; 0,01171)	0,01395 (0,01225; 0,01638)	< 0,001	< 0,001
SM d18:2/14:0	0,0146 (0,01364; 0,01591)	0,00974 (0,00637; 0,01193)	< 0,001	< 0,001
CerP d18:0/24:0	0,01004 (0,00881; 0,01065)	0,01337 (0,01125; 0,01537)	< 0,001	0,001

В результате анализа ВЭЖХ-МС было идентифицировано в общей сложности 345 липидов. Из 345 идентифицированных видов липидов 109 видов липидов с VIP > 1 внесли наиболее значительный вклад в построение модели (Таблица 3.36).

Таблица 3.36 - Глицеролипиды, глицерофосфолипиды и сфинголипиды с максимальным значением VIP, на основании которых была построена OPLS-DA-модель, дифференцирующая образцы крови групп контроля и пациентов с I-IV стадиями заболевания

Класс липидов	Липиды
<b>Глицеролипиды</b>	
диглицериды	<b>DG</b> (18:1_22:6, 18:1_18:2), <b>MGDG</b> (14:1_15:1)
триглицериды	<b>TG</b> (16:1_18:0_18:1, 18:1_18:3_22:6, 18:1_18:2_22:6, 18:2_22:6_22:6, 18:2_20:5_22:6, 16:0_18:2_22:6, 16:1_18:0_18:1, 18:2_18:3_20:5, 16:0_18:1_22:6, 12:0_18:2_18:2, 18:2_18:2_20:5, 10:0_16:0_18:2, 18:1_18:3_18:4, 16:0_18:1_8:0, 16:0_16:0_18:1, 18:0_18:1_18:2, 10:0_14:0_16:0, 14:0_16:1_18:2, 18:2_18:2_18:3), <b>OxTG</b> (16:1_18:2_18:3, 18:1_18:3_18:3, 18:2_18:3_18:3, 16:1_18:1_18:3, 16:0_18:2_18:3, 18:2_18:2_18:3, 14:1_18:1_18:3)
<b>Глицерофосфолипиды</b>	
плазмалогены (плазманилы и плазменилы)	<b>Plasmenyl-PC</b> (P-16:1/18:0, O-22:0/20:3, O-16:0/20:4, P-16:0/18:2, 16:1_22:6, O-18:0/18:2, O-18:0/18:3, 15:0_18:2, 18:0_20:5), <b>Plasmanyl-LPC</b> (O-16:0, O-16:1, O-18:1), <b>Plasmenyl-PE</b> (P-18:0/18:2, P-18:0/18:1, P-18:0/20:4, P-18:0/22:6, P-18:1/20:4, P-18:1/22:6, P-16:1/22:6, P-18:0/20:4, P-18:0/20:3)
фосфатидилхолины	<b>OxLPC</b> (15:0, 18:0_18:2, 18:4, 24:1, 22:1, 22:2, 20:2, 17:1), <b>PC</b> (14:0_18:2, 14:1_22:6, 14:0_18:3, 16:1_18:3, 14:0_16:0, 18:0_20:2, 18:2_18:3, 18:3_20:5, 18:2_22:6), <b>LPC</b> (16:0, 17:0, 15:0, 18:0, 18:1, 20:2, 18:2, 18:2, 16:0, 18:3, 18:1, 20:0)
этанолламины	<b>PEtOH</b> (16:3_18:3, 46:10, 20:0_22:5, 20:1_22:2, 20:0_20:1), <b>PE</b> (16:0_22:6, 18:4_22:5)
фосфатидилсерины	<b>PS</b> (37:5, 15:1_20:4)
фосфоинозитолы	<b>PI</b> 36:4
<b>Сфинголипиды</b>	
сфингомиелины	<b>SM</b> (d20:0/18:4, d22:5/26:0, d18:1/18:0, d18:1/20:3, d18:1/12:0, d22:5/26:0, d22:4/20:0, d18:2/14:0)
церамиды	<b>CerP</b> (d18:0/24:0, 20:5, 20:2, 18:3)

Модель OPLS-DA данных ВЭЖХ-МС, полученных для образцов крови наблюдаемых контрольной группы и пациентов с РЯ ВСЗ, объясняет существенную долю данных с использованием скрытых переменных ( $R^2$  составил 0,87). Параметр, характеризующий часть данных, предсказанных моделью в соответствии с перекрестной проверкой ( $Q^2$ ), составил 0,77. Чувствительность и специфичность этой модели OPLS-DA достигли 100%.

Модель OPLS-DA для образцов из контрольной группы и образцов от пациентов с IA-IC стадиями РЯ ВСЗ (Таблица 3.37) также характеризовалась высокими параметрами:  $R^2 = 0,96$  и  $Q^2 = 0,86$ , и прошла тест на перестановку. Чувствительность и специфичность модели также достигли 100%.

Таблица 3.37 – Глицеролипиды, глицерофосфолипиды и сфинголипиды с максимальным значением VIP, на основании которых была построена OPLS-DA-модель, дифференцирующая образцы крови групп контроля и пациентов с IA-IC стадиями заболевания

Класс липидов	Липиды
<b>Глицеролипиды</b>	
диглицериды	<b>(DG (18:1_22:6, 18:2_18:2), MGDG (41:6, 17:2_22:0)),</b>
триглицериды	<b>(TG (18:2_22:6_22:6, 18:2_20:5_22:6, 18:1_18:3_22:6, 18:1_18:2_22:6, 18:2_18:2_20:5, 16:0_18:2_22:6, 16:1_18:3_18:4, 18:2_18:3_20:5, 16:0_18:1_22:6, 16:1_19:0_20:1, 18:1_18:3_18:4, 18:2_18:2_18:3, 16:0_17:1_18:1, 18:3_18:3_20:4, 16:1_18:0_22:4, 16:0_18:3_18:4, 14:1_18:2_18:3, 16:1_17:0_18:0, 15:0_18:1_18:2), OхTG (18:1_18:3_18:3, 18:2_18:3_18:3, 16:1_18:1_18:3, 14:1_18:1_18:3, 16:0_18:1_18:1, 16:1_18:3_9:1))</b>
<b>Глицерофосфолипиды</b>	
плазмалогены (плазманилы и плазменилы)	<b>Plasmany-PC (O-16:0/18:0, O-16:0/20:5, O-22:1/20:5, O-24:2/20:5, P-24:1/22:6, P-24:1/22:5, P-24:0/20:4, O-24:2/20:5, O-24:1/20:3, P-18:0/22:6, P-16:0/16:0, O-18:1/20:5, 18:1_20:0), Plasmany-LPC (18:2, O-16:0, O-16:1), Plasmany-PC (O-24:2/22:6, P-22:0/20:4), Plasmenyl-PE (P-16:0/22:6)</b>
фосфатидилхолины	<b>PC (18:0_21:0, 16:0_18:1, 18:0_20:4), LPC (16:0, 15:0, 16:0, 16:1, 17:0, 18:2, 18:3, 18:3_20:5, 18:2_18:3, 18:1, 18:0, 20:2, 20:0, 20:4, 18:1, 22:5), OхLPC (15:0, 18:4, 18:3, 18:4, 20:2, 22:2, 24:1)</b>
этанолламины	<b>PEтOH (15:0_15:0, 16:0_22:6, 16:3_18:3, 20:1_22:5, 46:10)</b>
фосфатидилсерины	<b>PS 18:0_22:6</b>
фосфоинозитолы	<b>PI 38:6</b>
<b>Сфинголипиды</b>	
сфингомиелины	<b>SM (d22:4/18:1, d22:5/26:0, d18:1/24:1, d17:1/16:1, d18:1/24:1, d22:2/21:0)</b>
церамиды	<b>Cer-NS d18:1/24:0, Cer-NDS d18:0/24:0, CE (20:5, 18:3, 16:1)</b>

Было обнаружено 107 липидов с  $VIP > 1$  и 100 липидов с  $p$ -значением  $< 0,05$ . Модель OPLS-DA для групп пациентов с IA-IC стадиями РЯ ВСЗ и с IA-IVB стадиями РЯ ВСЗ характеризовалась  $R^2 = 0,72$ , но  $Q^2$  модели составлял - 0,22, и анализ перестановок показал низкое качество соответствия. Чтобы преодолеть это препятствие, были разработаны модели логистической регрессии на основе 21 липида.

На Рисунке 3.34 представлен график счетов построенной OPLS-модели. На графике счетов наблюдается четкая группировка точек в 2 кластера вдоль первой главной компоненты. На качество созданной статистической модели указывают рассчитанные для нее характеристики ( $R^2=0,87$ ,  $Q^2=0,80$ , чувствительность и специфичность ROC-кривой OPLS-модели достигли 100 %).

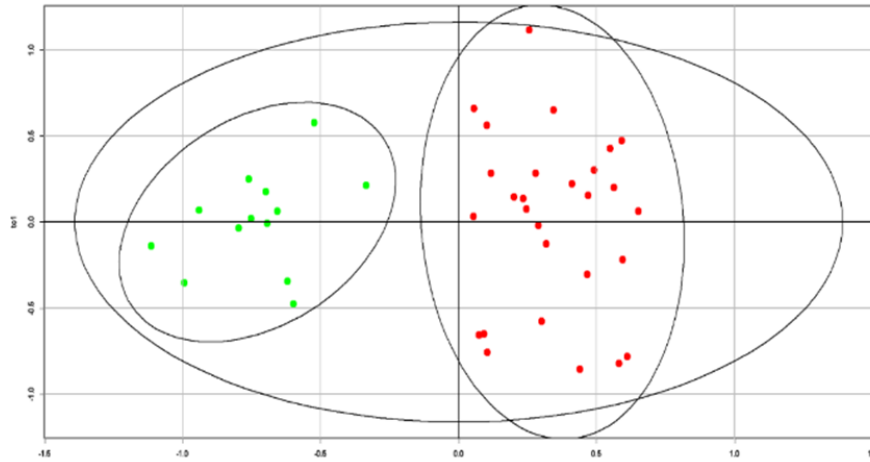


Рисунок 3.34 - График счетов, построенный по результатам OPLS-DA-анализа МС-данных, полученных в режиме положительных ионов для образцов из групп контроля (зеленые точки) и основной – РЯ I–IV стадии (красные точки)

На рисунке 3.35 приведен график счетов, построенный по результатам OPLS-анализа МС-данных образцов крови пациентов из группы контроля ( $n=13$ ) и пациентов с IA–IC стадиями РЯ ( $n=5$ ). На высокое качество данной модели указывают рассчитанные величины  $R^2=0,97$  и  $Q^2=0,86$ . Наиболее значимыми для построения данной модели были 108 из 345 идентифицированных липидов с  $VIP > 1$ .

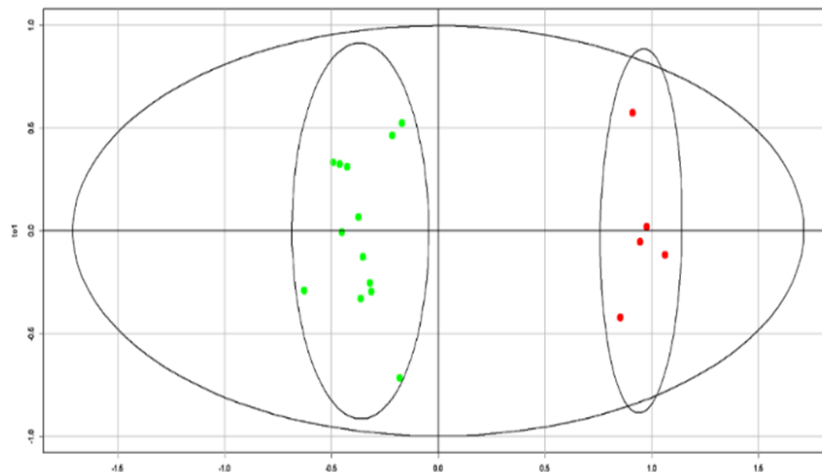


Рисунок 3.35 - График счетов, построенный по результатам OPLS-DA-анализа МС-данных, полученных в режиме положительных ионов для образцов из групп контроля (зеленые точки) и основной – РЯ IA–IC стадии (красные точки)

Уровни 58 липидов в образцах сыворотки больных на ранних стадиях статистически значимо снижены в 2–4 раза по сравнению с пациентами из группы контроля, уровни 9 липидов повышены при РЯ.

На вулканной диаграмме отображено распределение значимых липидов: показано, что уровни 103 липидов образцов сыворотки крови пациентов при ранних стадиях статистически значимо снижены в 2–4 раза по сравнению с уровнями липидов сыворотки крови наблюдаемых группы контроля (Рисунок 3.36).

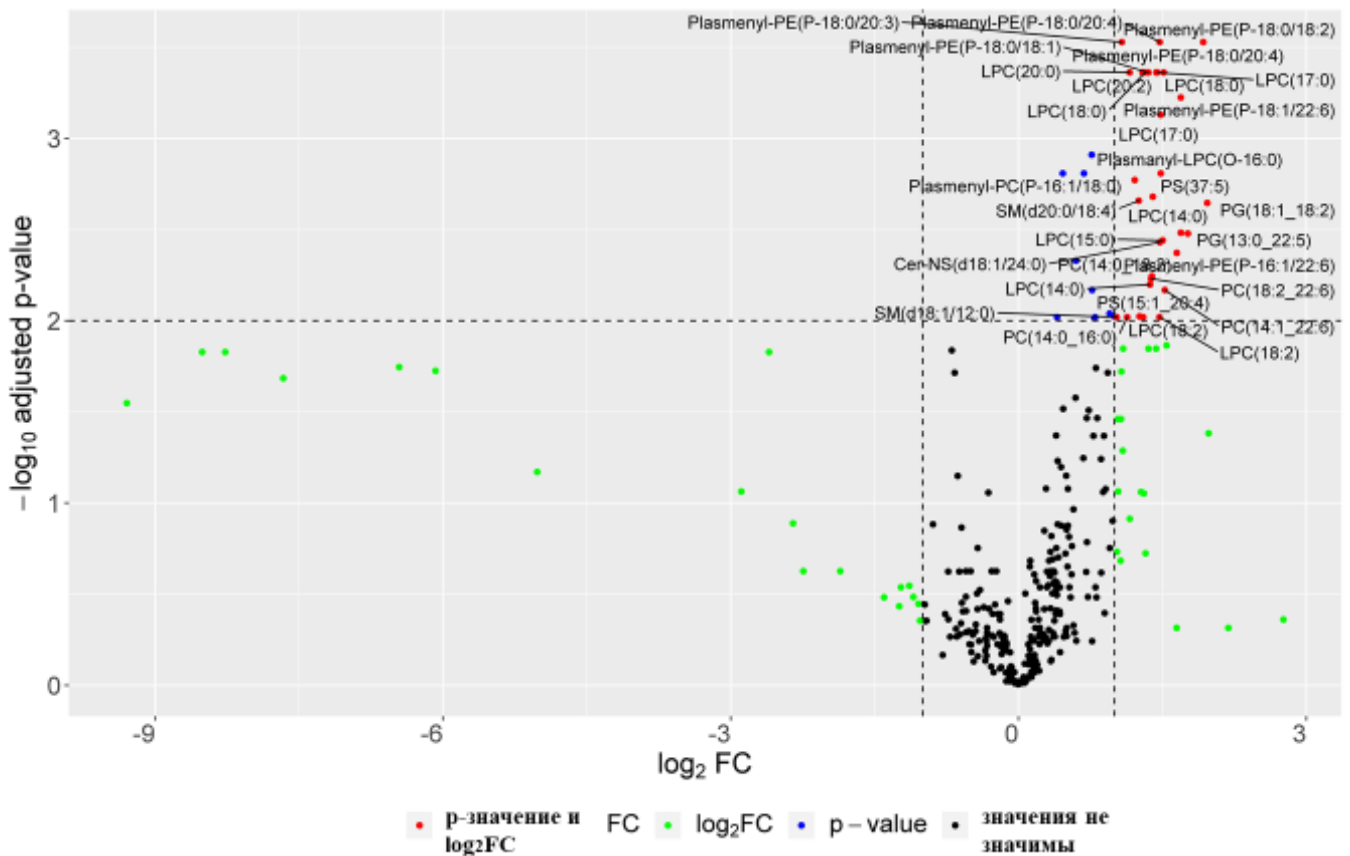


Рисунок 3.36 - График рассеяния, построенный по результатам сравнения содержания липидов в образцах крови пациентов с РЯ IA-IC стадиями и наблюдаемых группы контроля. Значения легенды:

- липиды, содержание которых достигло наиболее статистически значимых показателей при построении диаграммы (снижено при IA-IC стадиях РЯ);
- липиды, изменения которых оказались значимы без учета логарифма коэффициента кратного изменения;
- липиды, содержание которых статистически значимо изменено (при  $\log_2 FC < 0$  -повышено при I-II стадиях РЯ,  $\log_2 FC > 0$  - снижено);
- липиды, изменение содержания которых не достигло статистической значимости ( $p > 0,05$ )

Далее было проведено сравнение липидных профилей в образцах сыворотки крови 28 больных из группы ранних (IA–IC стадии; n=5) и более поздних стадий (IIA–IVB; n=23).

На Рисунке 3.37 представлен график счетов, построенный по результатам OPLS-анализа МС-данных, полученных в режиме положительных ионов для образцов из групп РЯ IA–IC (красные точки) и IIА–IVB стадии (синие точки).

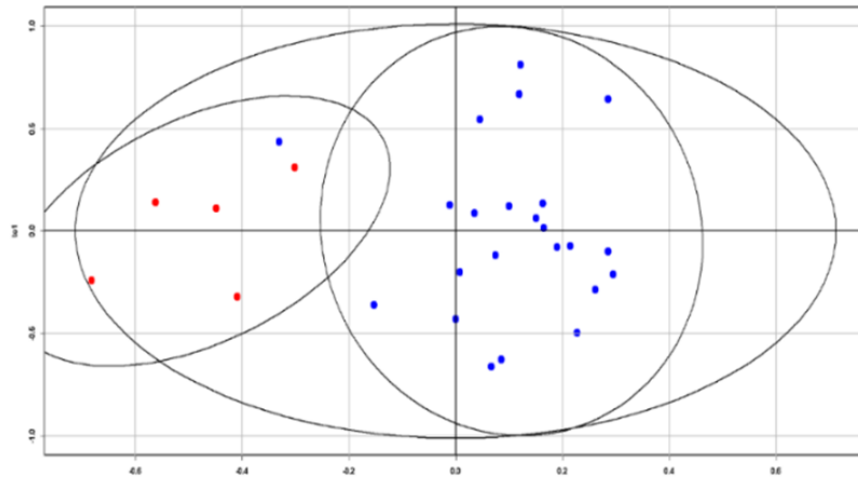


Рисунок 3.37 - График счетов, построенный по результатам OPLS-DA-анализа МС-данных, полученных в режиме положительных ионов для образцов из групп больных РЯ IA–IC (красные точки) и IIА–IVB (синие точки) стадий (чувствительность – 96%, специфичность – 100%, AUC=0,99)

Построенная в процессе сравнения OPLS-модель характеризовалась чувствительностью 96% и специфичностью 100%, AUC=0,99. Наиболее существенными для создания данной модели были 99 липидов (Рисунок 3.38).

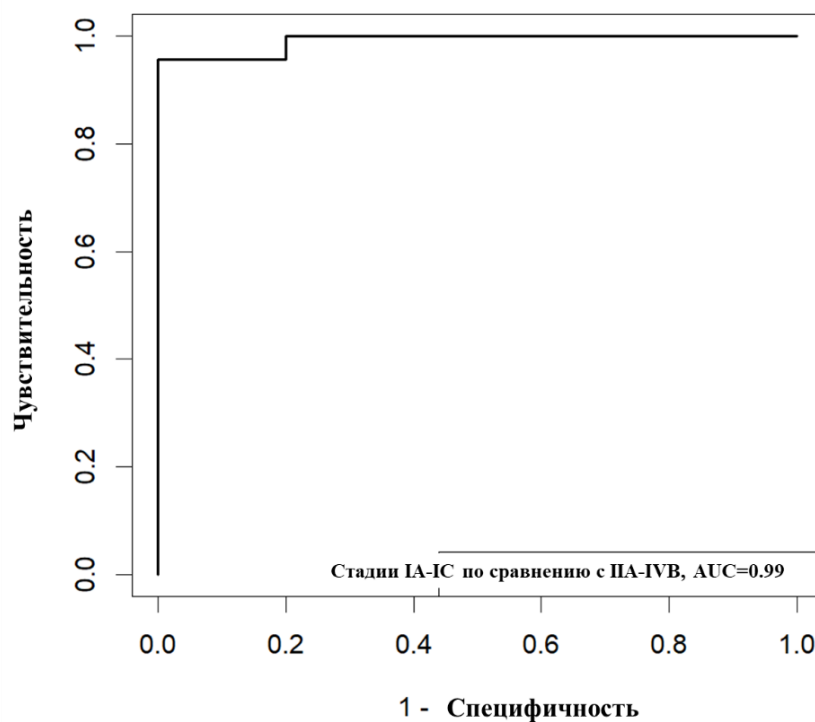


Рисунок 3.38 - ROC-кривая модели OPLS-DA, разработанной на основании уровней липидов в крови в группах больных РЯ IA–IC и IIА–IVB стадий

Показатели чувствительности, специфичности, а также оценочные параметры построенных диагностических моделей приведены в Таблице 3.38.

Таблица 3.38 – Показатели чувствительности, специфичности, а также оценочные параметры построенных диагностических моделей

Сравниваемые группы	Тип модели	Независимые различия	R <sup>2</sup>	Q <sup>2</sup>	AUC	Порог	Se	Sp
Контроль и I-IV стадии РЯ ВСЗ	OPLS-DA	идентифицировано 345 липидов	0.87	0.77	1	0.57	1	1
Контроль и IA-IC стадии РЯ ВСЗ	OPLS-DA	идентифицировано 345 липидов	0.96	0.86	1	0.53	1	1
РЯ ВСЗ, IA-IC стадии и IIА-IVB стадии	логистическая регрессия	Cer-NS d18:1/24:0; LPC 20:0; Plasmenyl-PE P-18:0/20:3 PS 37:5	-	-	1	0.5	1	1
		CL 28:0 28:0; LPC 15:0; LPC 18:0; LPC 20:0	-	-	1	0.5	1	1
		CL 28:0 28:0; LPC 15:0; LPC 20:0; OxLPC 18:3	-	-	1	0.5	1	1
		CL 28:0 28:0; LPC 18:0; Plasmanyln-LPC O-16:0; Plasmenyl-PC P-16:1/18:0	-	-	1	0.5	1	1

В качестве примера, демонстрирующего данный подход для определения стадий РЯ (IA-IC или IIА-IVB) по липидному профилю сыворотки крови, приведены данные отнесения пациента к той или иной диагностической группе по результатам применения разработанных OPLS-DA моделей, с дальнейшим сравнения результатов с заключением «эталонного» гистологического исследования. На изображении представлено расположение образцов крови пациентов Д., С. и М. на графиках счетов (Рисунок 3.39).

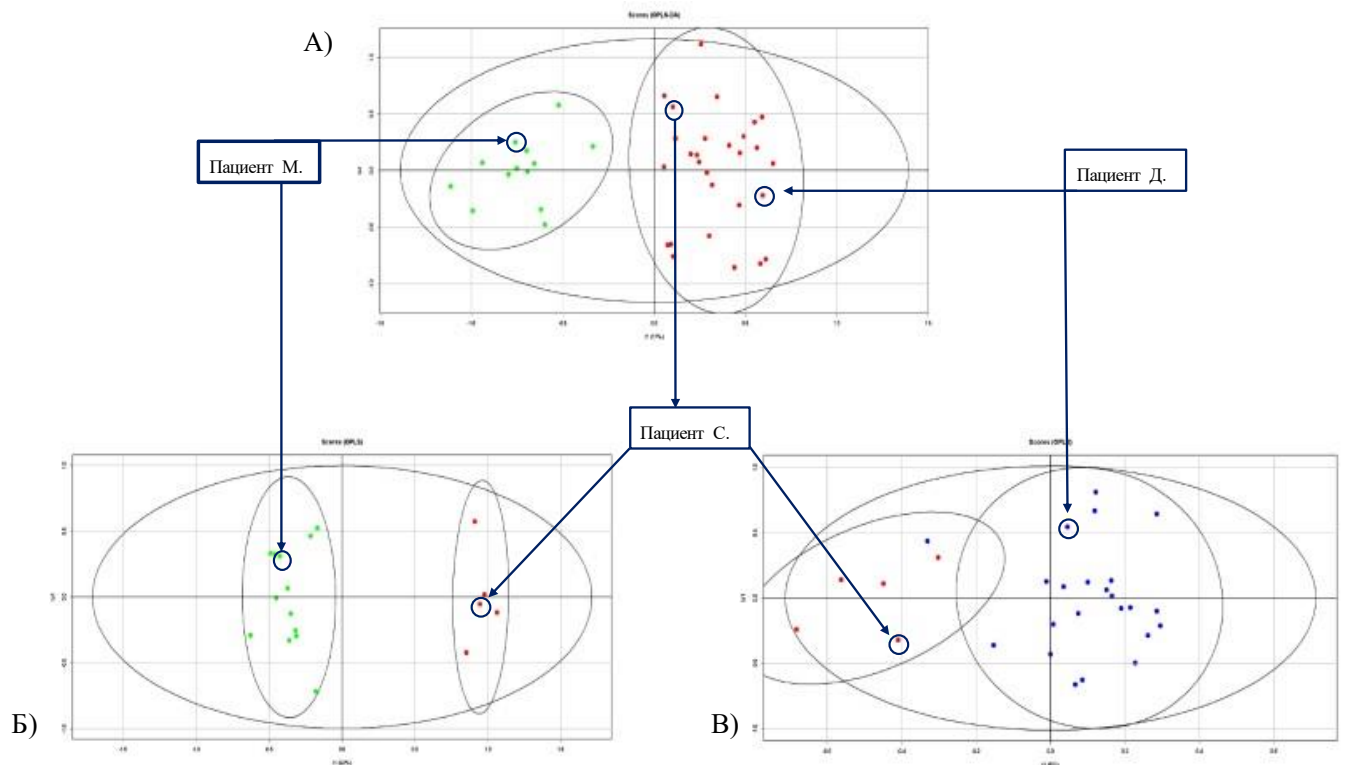


Рисунок 3.39 – Топическое расположение на графиках счетов пациентов Д. (36 лет, диагноз: «Рак яичников IVB стадии T3cNxM1 (метастатическое поражение печени и легких)»), С. (47 лет, диагноз «Рак яичников IA стадии, T1aNxMo. Состояние после нерадикального хирургического лечения от 27.11.2019»), М. (46 лет, наблюдаемый группы контроля) на графиках счетов, построенных по результатам OPLS-DA анализа масс-спектрометрических данных.

Сравнение образцов:

- а) группа контроля (зеленые точки) и пациенты с РЯ ВСЗ I-IV стадий (красные точки);
- б) группа контроля (зеленые точки) и РЯ ВСЗ I-II стадий (красные точки);
- с) I-II (красные точки) и III-IV (синие точки) стадии РЯ ВСЗ

Пациент Д., 36 лет 26.03.2020 обратилась на консультацию к врачу-акушеру-гинекологу, онкологу с данными УЗИ органов малого таза, выполненного по месту жительства. По результатам УЗИ органов малого таза: объемное образование правого яичника, кистозно-солидное образование левого яичника неясного происхождения, образования брюшной полости неясного происхождения (в брюшной полости слева на уровне пупка определяются три округлых образования 9.1 см, 4.4 см, 3.4 см). Рекомендовано после дообследования хирургическое лечение в плановом порядке. Выявлено повышение онкомаркеров (СА 125 до 7080 Ед/мл, НЕ 4 до 545 пмоль/л). По данным компьютерной томографии органов грудной клетки, выявлены множественные очаги в легких (предположительно метастатического генеза). 24.04.2020 выполнено оперативное лечение в объеме: лапароскопия, биопсия опухоли, данные ИГХ: в присланном материале карцинома высокой степени злокачественности (Рисунок 3.40).

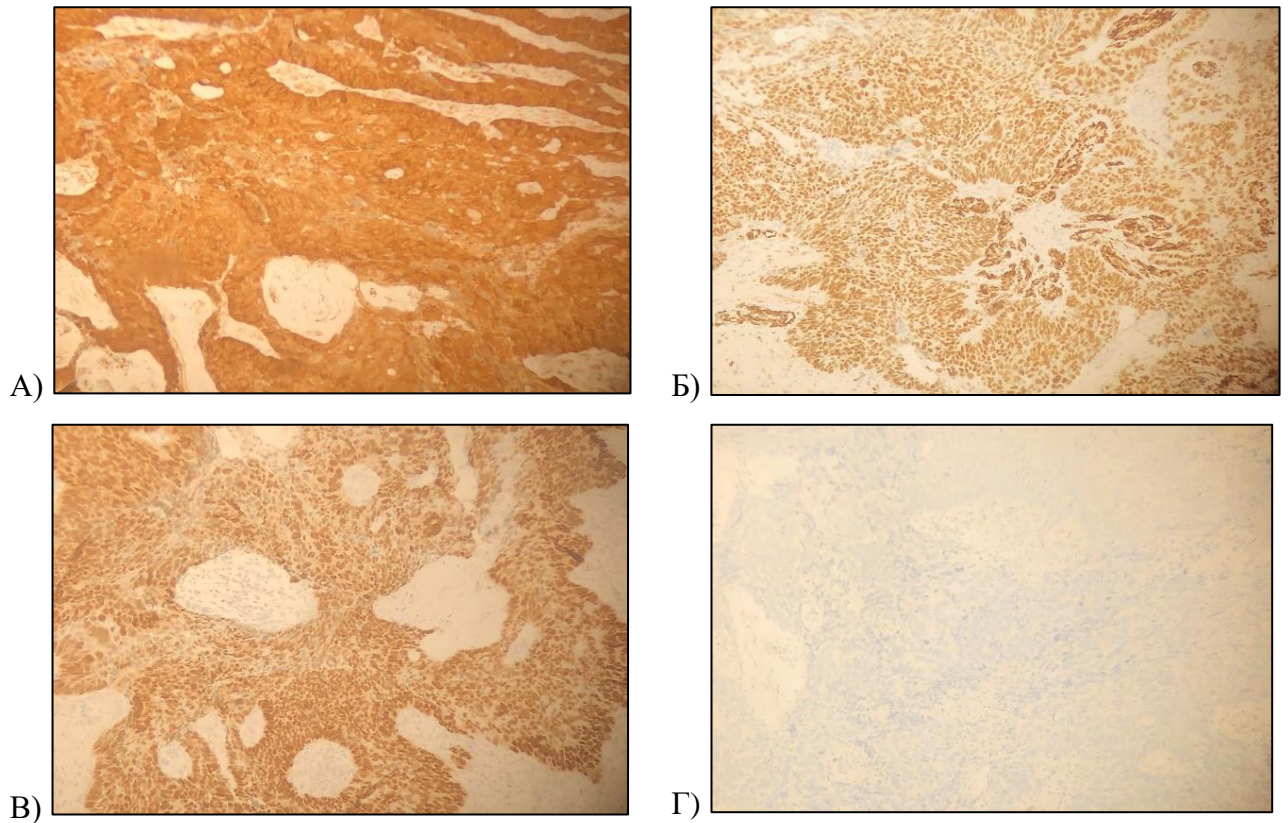


Рисунок 3.40 - Данные ИГХ-исследование опухоли пациента Д. (группа пациентов IIА-IVА стадиями заболевания) с маркерами (увеличение  $\times 100$ ): А) anti-p16 (клон Е6Н4, Ventana), яркая диффузная позитивная реакция; Б) anti-WT1 (клон 6F-H2, CellMarque), ядерная диффузная позитивная реакция; В) anti-PAX8 (клон MRQ-50, CellMarque), - ядерная диффузная позитивная реакция; Г) anti-p53 (клон DO-7, Ventana), - негативная реакция (mutant type)

Пациент Д. была направлена на консультацию к врачу-химиотерапевту. Учитывая распространенность заболевания, данные клинично-инструментальных, лабораторных методов и гистологической верификации, пациенту поставлен диагноз: «Рак яичников IVB стадии T3cNxM1». Иммунофенотипическая картина соответствует серозной карциноме яичников высокой степени злокачественности (high grade). Показано проведение лекарственного лечения по схеме: «Паклитаксел  $175 \text{ мг/м}^2$ , Карбоплатин AUC 6, внутривенно, капельно, 1 раз в 21 день, Бевацизумаб 7,5 мг, внутривенно, капельно, 1 раз в 21 день, в объеме трех курсов», далее рекомендовано проведение контрольного исследования и определение дальнейшей тактики.

Липидные профили сыворотки крови пациентов, использованные для построения математических моделей и последующего определения специально разработанного оценочного параметра (РОП), представлены на Рисунке 3.39 [240]. При применении первой модели OPLS-DA к липидному профилю сыворотки крови пациента Д. (Рисунок 3.39 А, В) было получено значение РОП = 0,6, что позволяет отнести пациента Д. к группе с наличием ЗНО яичников, поэтому необходимо применение второй из полученных OPLS-DA моделей: значение РОП = 2,7, что свидетельствует о принадлежности пациента Д. к группе серозного РЯ III-IV стадий.

Пациент С., 47 лет, обратилась с жалобами на наличие объемного образования правого яичника. 27.11.2019 получила оперативное лечение в плановом порядке в объеме: гистерорезектоскопия, раздельное диагностическое выскабливание цервикального канала и полости матки, лапароскопическая резекция правого яичника. Заключение планового послеоперационного гистологического исследования ткани опухоли: серозная карцинома высокой степени злокачественности. Было выполнено ИГХ-исследование (данные приведены на Рисунках 3.41, 3.42).

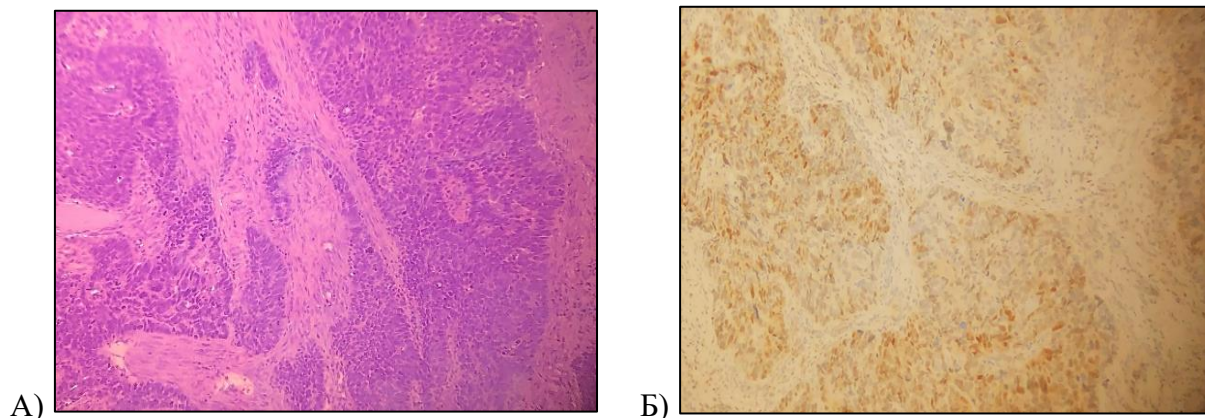


Рисунок 3.41 – Данные гистологического и ИГХ исследований пациента С. (группа пациентов с IA-IC стадиями заболевания): А) Микрофото серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности IA стадии, T1aNxMo, пациента С. (окр. гематоксилин-эозин), x100; Б) Микрофото, полученное при ИГХ-исследовании с антителом anti-Estrogen Receptor (ER) (клон SP1, Ventana), ядерная фокальная позитивная реакция, x100

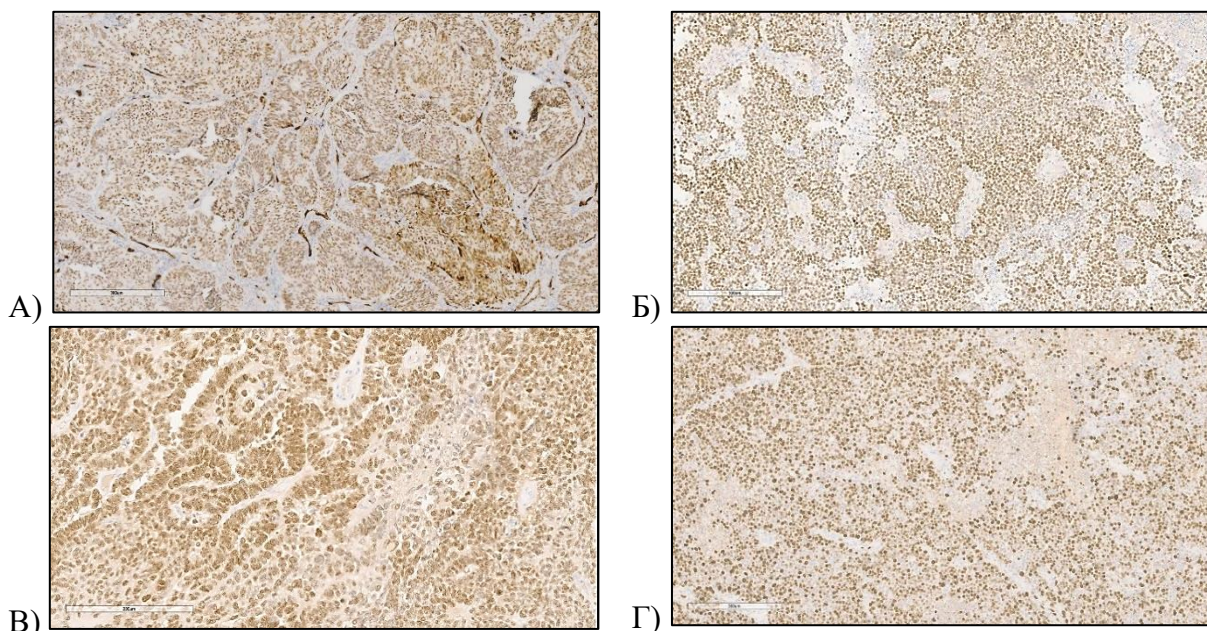


Рисунок 3.42 – Данные ИГХ-исследования с маркерами опухоли пациента С. (группа IA-IC стадий заболевания), (увеличение x 200): А) anti-WT1 (клон 6F-H2, CellMarque); Б) ядерная диффузная позитивная реакция с антителом anti-Ki-67 (клон 30-9, Ventana), Ki-67=95%, высокий уровень пролиферативной активности опухолевых клеток по сравнению с серозной карциномой яичника низкой степени злокачественности; В) ядерная яркая диффузная позитивная реакция с антителом anti-PAX8 (клон MRQ-50, CellMarque); Г) ядерная диффузная позитивная реакция с антителом anti-p53 (mutant type) (клон DO-7, Ventana)

В связи с нерадикальным хирургическим лечением пациент С. повторно госпитализирована в Центр для выполнения радикального лечения. При расчете РОП на основании данных OPLS-анализа к образцу крови пациента С. полученное значение параметра позволяет отнести пациента к группе серозного РЯ IA-IC стадий (Рисунок 3.39 Б, В).

Пациент М., 36 лет, была включена в группу контроля данного исследования в связи с соответствием критериям включения. По данным опроса, анкетирования, УЗИ органов малого таза у пациента не было получено данных о наличии острых или хронических воспалительных процессов, объемных новообразований органов малого таза, указания на прием медикаментов на момент исследования, а также в анамнезе в течение 6 и более месяцев. Уровень онкомаркера СА 125 составил 10 Ед/мл, HE4 – 12 пмоль/л. Применение к образцу крови пациента М. модели OPLS-DA позволяет отнести пациента М. к группе контроля (Рисунок 3.39 А, Б).

Таким образом, в изучаемых группах значительно различалось содержание липидов ряда классов (диглицерды, триглицериды, фосфатидилхлолины, этаноламины, сфингомиелины, церамиды, фосфатидилсерины, фосфоинозитолы, простагландины), а именно: LPC (14:0, 15:0, 17:0, 18:0, 20:0, 20:2), Plasmeyl-PE (P-16:1/22:6, P-16:0/18:1, P-18:0/18:2, P-18:0/20:4, P-18:0/18:1, P-18:0/20:4, P-18:0/20:3, P-18:1/22:6, P-16:0/18:2, P-16:0/18:1), PEtOH 20:1\_22:2, PG 18:1\_18:2, Plasmeyl-LPC (O-16:0, O-18:0/18:3, P-16:1/18:0), SM d20:0/18:4, PC 14:0\_18:2, PS 37:5, PG 13:0\_22:5, Cer-NS d18:1/24:0; площадь под кривой моделей, построенных на основании липидных профилей, достигла 0,99-1 ( $p_{adj} < 0,001$ ).

Первая OPLS-модель позволила дифференцировать пациентов с серозным РЯ от наблюдаемых группы контроля на основании 128 липидов ( $R^2=0,87$ ,  $Q^2=0,80$ , площадь под ROC-кривой  $AUC=1$ , чувствительность и специфичность 100%). Вторая модель построена для дифференциации пациентов с ранними стадиями РЯ ВСЗ и обследуемой группой контроля (108 липидов,  $R^2=0,97$ ,  $Q^2=0,86$ ). Третья модель ранжировала пациентов с ранними (IA-IC;  $n=5$ ) и распространенными (IIA-IVA;  $n=23$ ) стадиями заболевания:  $R^2=0,96$ ,  $Q^2=1,00$ ,  $AUC=0,99$ .

Подтвержденная возможность отнесения пациента к одной из клинических групп (здоровые добровольцы, РЯ ВСЗ ранних (IA-IC) и более поздних (IIA-IVA) стадий заболевания) на основании построенных дифференцирующих OPLS-моделей позволяет судить о высокой диагностической ценности изученного метода.

Построенные модели могут быть использованы для отнесения анализируемых образцов к той или иной клинической подгруппе. Таким образом, проведенный этап демонстрирует точность в дифференциации различных стадий серозного РЯ методом ВЭЖХ-МС.

## Диагностика серозного РЯ ВСЗ по липидному профилю плазмы крови

Была проведена оценка соответствия полученных липидных профилей предполагаемого и верифицированного диагнозов на основании анализа чувствительности (Se) и специфичности (Sp) диагностических показателей, а также прогностической ценности положительного (ПЦ «+») и отрицательного (ПЦ «-») результатов.

При проведении попарного сравнения образцов крови больных раком яичников и группы контроля в режиме отрицательных (РОИ) и положительных (РПИ) ионов с помощью теста Манна–Уитни было идентифицировано 60 (Se= 85.71%, Sp= 88.46%, ПЦ «+»= 94.74%, ПЦ «-»= 71.88%) и 89 (Se=66,67%, Sp=100%, ПЦ «+»=100%, ПЦ «-»=29.73%) липида, соответственно, которые оказались значимыми для создания дифференцирующих моделей, для которых были построены следующие ROC-кривые (Рисунки 3,43, 3,44).

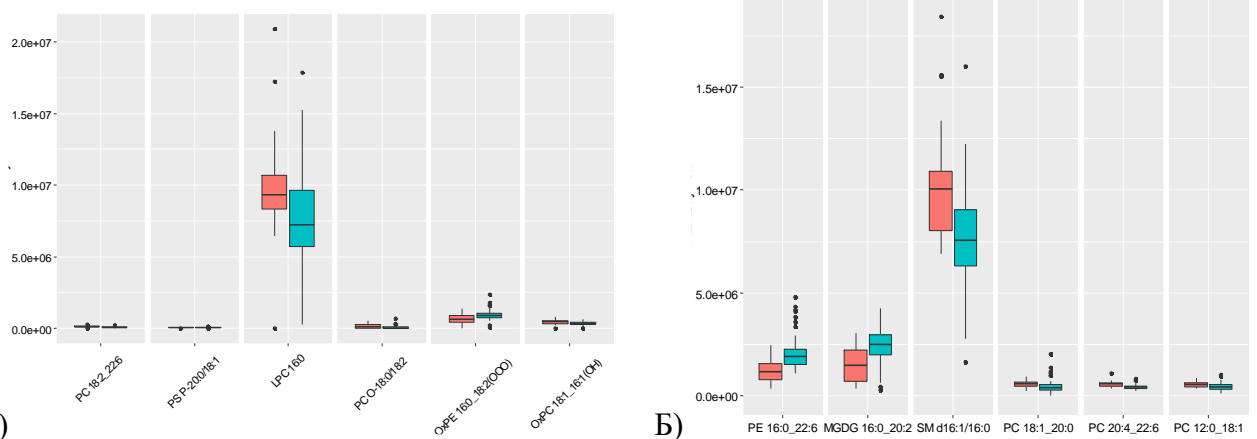


Рисунок 3.43 – Наиболее значимые липиды для построения моделей, дифференцирующих образцы крови наблюдаемых группы контроля (оранжевый бокс) и пациентов с РЯ ВСЗ (бирюзовый бокс) (А – РОИ, Б – РПИ)

Для режимов положительных и отрицательных ионов были получены следующие показатели моделей логистической регрессии, соответственно: AUC = 0,94, Se = 82%, Sp = 1% и AUC = 0,92, Se = 86%, Sp = 89% (Рисунок 3.44).

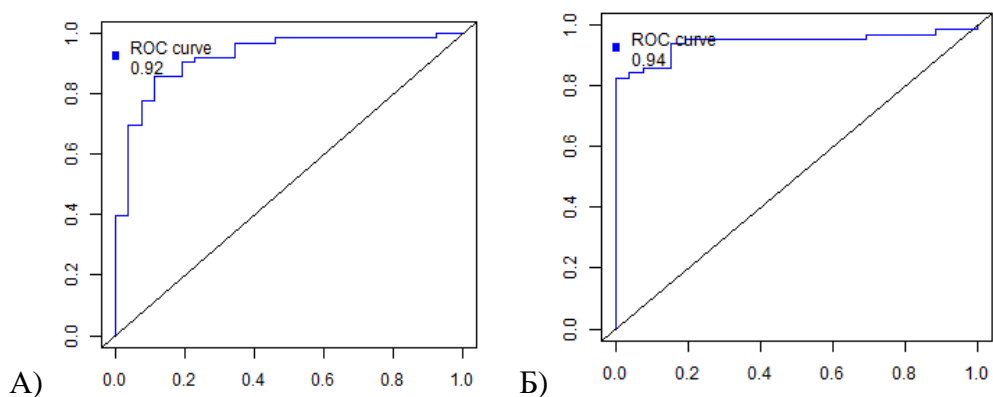


Рисунок 3.44 - ROC-кривые, полученные при попарном сравнении образцов групп пациентов с I-IV стадиями РЯ ВСЗ и контроля (А – РОИ, Б – РПИ)

При сравнении образцов пациентов с I-II и III-IV стадиями заболевания были получены следующие данные для режима положительных и отрицательных ионов, соответственно: было идентифицировано 13 ( $Se=92,45\%$ ,  $Sp=60\%$ , ПЦ «+»= $92,45\%$ , ПЦ «-»= $60\%$ ) и 11 ( $Se=77,36\%$ ,  $Sp=70\%$ , ПЦ «+»= $93,18\%$ , ПЦ «-»= $36,84\%$ ) липидов. В связи с тем, что в режиме отрицательных ионов  $AUC = 0,66$ , приводим ROC-кривую только для режима положительных ионов (Рисунок 3.45).

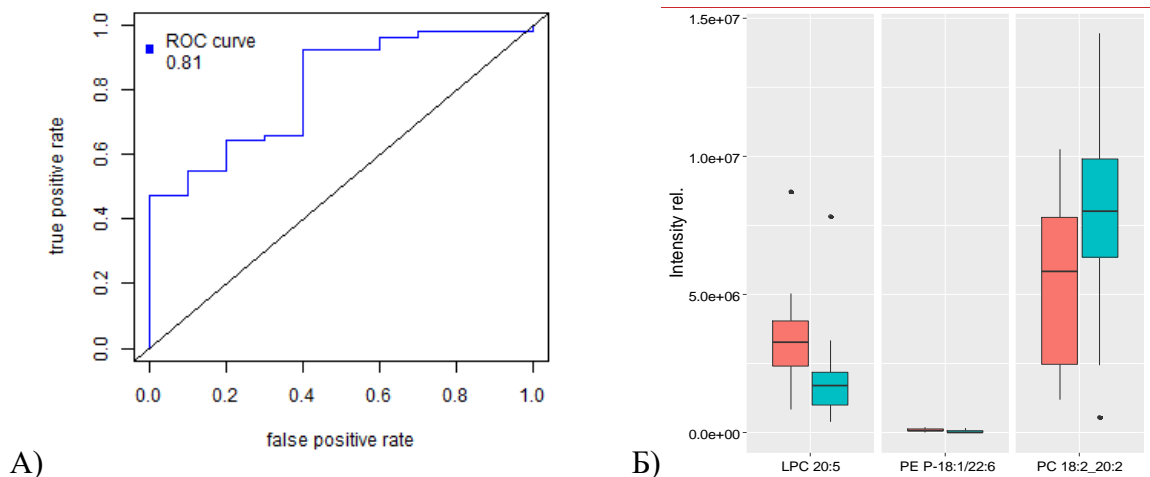


Рисунок 3.45 – А) ROC-кривая, полученная при попарном сравнении образцов крови пациентов с РЯ ВСЗ I-II и III-IV стадий заболевания (РПИ),  $AUC = 0,81$ ,  $Se = 0,92$ ,  $Sp = 0,6$ . Б) Уровни дифференцирующих липидов при I-II (оранжевый бокс) и III-IV (бирюзовый бокс) стадиях РЯ ВСЗ

При ранних стадиях заболевания было отмечено повышенное содержание LPC 20:5 и сниженное PC 18:2\_20:2. При дальнейшем проведении попарного сравнения групп пациентов с I-II стадиями РЯ ВСЗ и контроля были получены дифференцирующие липиды: 5 в режиме отрицательных ионов ( $Se=60\%$ ,  $Sp=84,62\%$ , ПЦ «+»= $60\%$ , ПЦ «-»= $84,62\%$ ) и 15 в режиме положительных ионов ( $Se=80\%$ ,  $Sp=57,69\%$ , ПЦ «+»= $42,11\%$ , ПЦ «-»= $88,24\%$ ). Для режимов положительных и отрицательных ионов были получены следующие показатели моделей логистической регрессии, соответственно:  $AUC = 0,7$ ,  $Se = 80\%$ ,  $Sp = 58\%$  и  $AUC = 0,69$ ,  $Se = 60\%$ ,  $Sp = 85\%$ .

Таким образом, выявление характерных изменений липидного профиля крови при ранних стадиях РЯ ВСЗ является перспективным методом выявления заболевания на прогностически более благоприятных ранних стадиях заболевания.

### 3.2.4 Сравнение диагностической точности данных ВЭЖХ-МС крови и определения опухолевого антигена СА 125

Проведено сравнение диагностической точности одного из стандартных клинического метода диагностики ООВОЯ (определение СА 125 при ООВОЯ) и ВЭЖХ-МС на примере сопоставления диагностической точности исследования изменений маркеров крови, индексов,

данные УЗИ и липидного профиля. Данные диагностической точности определения маркеров крови и эхографических изменений у пациентов с ООВОЯ описаны выше (пункт 3.1 данной главы). Было показано, что их диагностическая точность ограничена. Наиболее сложной для дифференциальной диагностики является группа пациентов с ПОЯ и РЯ ВСЗ ранних стадий. Чувствительность и специфичность УЗИ органов малого таза, выполненного врачом-экспертом при ПОЯ, составляют 40,15% и 50%, соответственно, при РЯ ВСЗ I-II стадий – 74,85% и 18,5%, соответственно. Было показано, что также в этих группах наблюдались наименее точные значения определения СА 125 (специфичность при ПОЯ – 25%, при РЯ ВСЗ I-II стадий – 29,72%), НЕ 4 (специфичность при ПОЯ – 11,86%, при РЯ ВСЗ I-II стадий – 10,29%), ROMA (специфичность при ПОЯ – 11%, при РЯ ВСЗ I-II стадий – 11,21%) и RMI (специфичность при ПОЯ – 55,4%, при РЯ ВСЗ I-II стадий – 64,71). В исследование были включены 242 пациента, образцы плазмы которых были проанализированы при помощи метода ВЭЖХ-МС: 32 пациента с цистаденомой, 58 – с ЭКЯ, 23 – с тератомой, 30 - с ПОЯ, 16 - с РЯ НСЗ, 63 - с РЯ ВСЗ, а также 20 наблюдаемых группы контроля (клиническое описание приведено в Таблице 3.1). Значения СА 125 у пациентов исследуемых групп приведены на Рисунке 3.46.

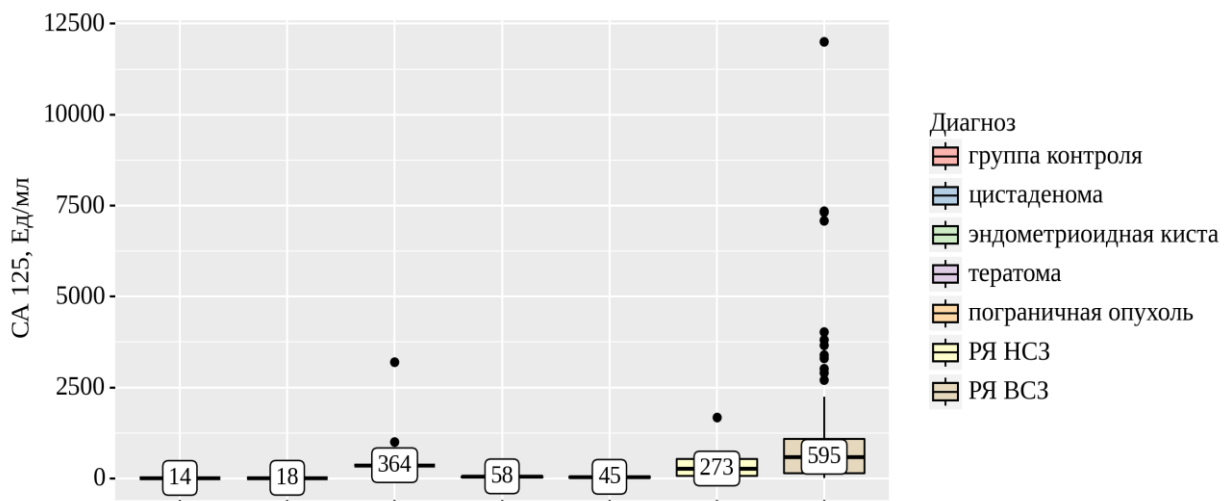


Рисунок 3.46 – СА 125 у пациентов исследуемых групп

Построены прогностические модели определения повышения СА 125 и изменения липидного профиля при помощи метода ВЭЖХ-МС при ООВОЯ. Показатели моделей логистической регрессии при определении повышения СА 125 сыворотки крови и липидного профиля плазмы крови пациентов с опухолевидными образованиями и опухолями яичников при помощи метода ВЭЖХ-МС в режимах отрицательных и положительных ионов, приведены в Таблице 3.39.

Таблица 3.39 – Показатели моделей логистической регрессии при определении повышения СА 125 и изменения липидного профиля плазмы крови пациентов с ООВОЯ при помощи метода ВЭЖХ-МС в режимах положительных и отрицательных ионов

Сравнение	СА 125			Липидный профиль					
				РПИ			РОИ		
	AUC	Se	Sp	AUC	Se	Sp	AUC	Se	Sp
контроль / цистаденома	0,75	0,77	0,78	0,88	0,97	0,69	0,88	0,93	0,77
контроль / ЭКЯ	0,96	0,96	0,96	0,87	0,82	0,75	0,86	0,9	0,73
контроль / тератома	0,83	0,76	0,96	0,86	0,91	0,73	0,83	0,9	0,73
контроль / ПОЯ	0,61	0,57	0,96	0,82	0,75	0,77	0,78	0,86	0,69
контроль / РЯ НСЗ	0,93	0,94	0,96	0,88	0,81	0,92	0,82	0,94	0,65
контроль / РЯ ВСЗ (I-II)	0,91	0,9	0,96	0,7	0,8	0,58	0,69	0,6	0,85
контроль / РЯ ВСЗ (III-IV)	0,97	0,96	0,96	0,97	0,92	0,96	0,95	0,83	0,96
цистаденома / ЭКЯ	0,96	0,95	0,96	0,74	0,82	0,6	0,82	0,74	0,77
цистаденома / тератома	0,76	0,76	0,94	0,83	0,67	0,87	0,81	0,76	0,7
цистаденома / ПОЯ	0,57	0,57	0,97	<b>0,78</b>	0,75	0,87	<b>0,81</b>	0,75	0,8
цистаденома / РЯ НСЗ	0,93	0,94	0,94	0,78	0,75	0,83	0,77	0,69	0,8
цистаденома / РЯ ВСЗ (I-II)	0,89	0,9	0,94	0,7	0,5	0,96	0,8	0,6	0,97
цистаденома / РЯ ВСЗ (III-IV)	0,97	0,96	0,97	0,9	0,72	0,93	0,92	0,87	0,9
ЭКЯ / тератома	0,9	1	0,81	0,81	0,71	0,8	0,7	0,67	0,71
ЭКЯ / ПОЯ	0,93	1	0,79	0,75	0,71	0,75	0,71	0,86	0,53
ЭКЯ / РЯ НСЗ	-	-	-	0,79	0,61	0,86	0,77	0,64	0,84
ЭКЯ / РЯ ВСЗ (I-II)	0,77	0,9	0,81	0,78	0,7	0,84	0,73	0,8	0,75
ЭКЯ / РЯ ВСЗ (III-IV)	0,47	0,52	0,77	0,93	0,92	0,86	0,91	0,83	0,84
тератома / ПОЯ	0,63	0,57	0,86	<b>0,91</b>	0,75	1	<b>0,85</b>	0,79	0,86
тератома / РЯ НСЗ	<b>0,72</b>	0,69	0,86	<b>0,81</b>	0,85	0,76	<b>0,76</b>	0,88	0,67
тератома / РЯ ВСЗ (I-II)	0,59	0,6	0,86	<b>0,81</b>	1	0,71	0,66	0,6	0,76
тератома / РЯ ВСЗ (III-IV)	0,84	0,84	0,86	0,93	0,92	0,9	0,81	0,96	0,57
ПОЯ / РЯ НСЗ	<b>0,82</b>	0,69	0,96	<b>0,83</b>	0,88	0,71	<b>0,75</b>	0,69	0,82
ПОЯ / РЯ ВСЗ (I-II)	0,69	0,6	0,85	-	-	-	<b>0,71</b>	0,8	0,71
ПОЯ / РЯ ВСЗ (III-IV)	0,89	0,84	0,86	0,94	0,98	0,79	0,92	0,73	1
РЯ НСЗ / РЯ ВСЗ (I-II)	0,57	0,9	0,5	-	-	-	-	-	-
РЯ НСЗ / РЯ ВСЗ (III-IV)	0,51	0,34	1	0,76	0,83	0,69	0,71	0,85	0,63

**Примечание:** зеленым цветом выделены показатели, превысившие пороговое значение ( $\geq 0,7$ ); оранжевым цветом выделены клинические группы, наиболее значимые для дифференциальной диагностики

Наиболее выраженные дифференциально-диагностические преимущества определяемых липидных профилей крови методом ВЭЖХ-МС по сравнению с определением повышения СА 125 были показаны для большинства из перечисленных сравнений, в том числе для наиболее клинически значимых из них: ПОЯ от серозной цистаденомы, ПОЯ от тератомы, РЯ НСЗ от тератомы, РЯ ВСЗ ранних стадий от тератомы и ПОЯ, - при попарном сравнении нозологии различаются по липидному профилю с показателями площади под ROC-кривой более 70% и чувствительностью и специфичностью построенных прогностических моделей  $> 70\%$ . Определение липидного профиля плазмы крови при изученных образованиях яичников сопоставимо с информативностью определения СА 125 сыворотки крови по диагностической точности или превышает ее при дифференцировке перечисленных образований от РЯ ВСЗ.

Таким образом, оценка изменений липидного профиля при изученных ООВОЯ позволяет повысить чувствительность и специфичность рутинно внедренных в клиническую практику методов диагностики и усовершенствовать ведение пациентов с ООВОЯ. Полученные данные о высокой информативности созданных статистических моделей подтверждают возможность применения обнаруженного перечня липидов для повышения чувствительности и специфичности рутинных методов неинвазивной предоперационной диагностики.

### 3.2.5 Изучение взаимосвязи повышения СА 125 с изменением метаболического профиля при раке яичников высокой степени злокачественности

Для изучения взаимосвязи между измеренными уровнями СА 125 и концентрациями метаболитов в крови, а также для дополнения представления о биологической роли данных изменений в крови пациентов с верифицированным РЯ ВСЗ, проведено исследование содержания СА 125 и метаболитов в плазме крови при помощи метода спектроскопического ЯМР и выполнен корреляционный анализ выявленных изменений со стадиями заболевания. В исследование были включены 67 пациентов, из них 11 пациентов с I или II стадией РЯ ВСЗ и 56 пациентов - с III или IV стадией [8]. Пациенты были сопоставимы по возрасту и ИМТ: медианы возраста пациентов составили 53 ( $Q_1 - Q_3$ : 46 - 59) года и 54 ( $Q_1 - Q_3$ : 49 - 61) года, что сопоставимо с данными популяционных исследований [6]. Медианы ИМТ пациентов составили 24 ( $Q_1 - Q_3$ : 21 - 27)  $\text{кг}/\text{м}^2$  и 25 ( $Q_1 - Q_3$ : 23 - 28)  $\text{кг}/\text{м}^2$  (статистически значимых различий не получено, U-критерий Манна-Уитни). Распределение значений СА 125 в группах было неоднородным (Рисунок 3.47, А), медиана = 200 ед/мл, среднее = 742,2 ед/мл. Для анализа линейных моделей нормально распределенного признака, были использованы логарифмически преобразованные значения СА 125 (Б).

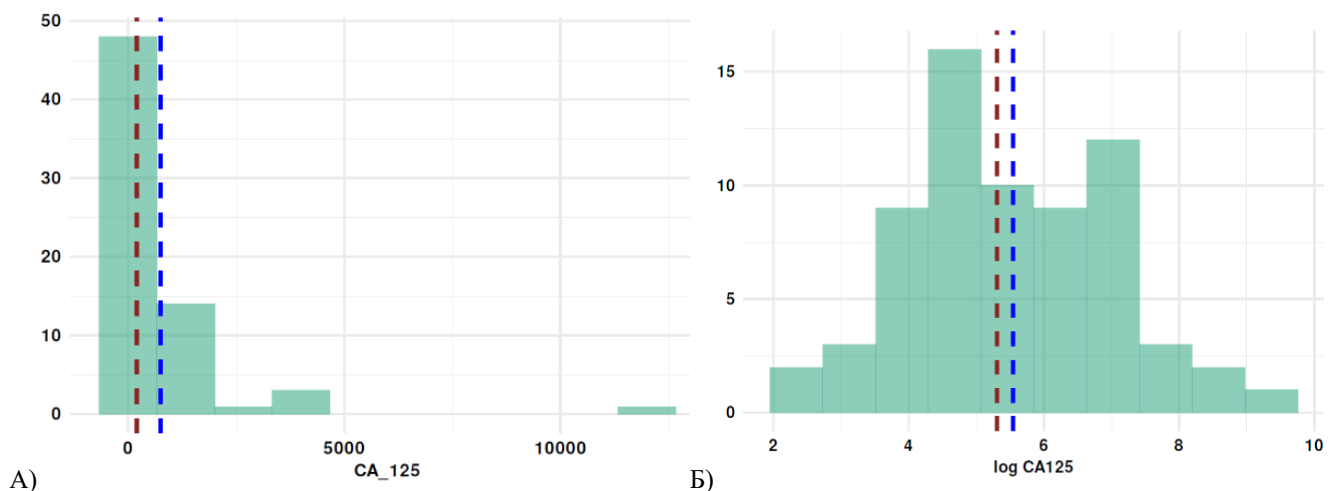


Рисунок 3.47 - Гистограмма значений СА 125 для выборки в исходном (А) и логарифмическом масштабе (Б). Примечание: бордовая линия указывает положение медианы, а синяя - среднее значение распределения.

Для характеристики метаболического состава плазмы крови, использовали профилирование методом <sup>1</sup>H-ЯМР, в результате чего было количественно определено 33 метаболита. В Таблице 3.40 приведены значения медиан концентрации метаболитов (μM) и межквартильные интервалы концентрации метаболитов 67 образцов плазмы крови, которые округлены до целого числа.

Таблица 3.40 - Количественно определенные метаболиты (n=33) плазмы крови пациентов

Метаболит	μM, Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	Метаболит	μM, Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>
2-Aminobutyrate 2-аминобутират	41	27 - 55	2-Hydroxybutyrate 2-гидроксibuтират	104	81 - 127
2-Oxoglutarate 2-оксоглутарат	30	18 - 48	3-Hydroxybutyrate 3-гидроксibuтират	206	122 - 460
Acetate Ацетат	21	15 - 28	Acetoacetate Ацетоацетат	107	55 - 199
Acetone Ацетон	103	58 - 177	Alanine Аланин	185	114 - 251
Arginine Аргинин	89	65 - 130	Betaine Бетаин	71	50 - 97
Citrate Цитрат	38	29 - 59	Creatine Креатин	33	20 - 46
Creatinine Креатинин	40	29 - 48	Ethanol Этанол	35	30 - 49
Formate Формиат	27	20 - 35	Glucose Глюкоза	3	2080 - 4199
Glutamate Глутамат	111	81 - 156	Glutamine Глутамин	310	241 - 407
Glycine Глицин	149	106 - 229	Isoleucine Изолейцин	45	31 - 64
Isopropanol Изопропанол	10	7 - 18	Lactate Лактат	1	817 - 2000
Leucine Лейцин	125	84 - 150	Lysine Лизин	91	62 - 115
Methanol Метанол	50	35 - 63	Pyruvate Пируват	41	30 - 57
Serine Серин	119	89 - 155	Succinate Сукцинат	24	6 - 53
Threonine Треонин	141	112 - 190	TMAO Триметиламин N-оксид	45	30 - 57
Tyrosine Тирозин	42	28 - 57	Valine Валин	168	108 - 201
myoInositol Миоинозитол	60	45 - 82			

Для дополнения данных, необходимых для понимания метаболизма аминокислот и ферментативных взаимопревращений (например, соотношение аланина и глутамин), глюконеогенеза (например, соотношение аланина и цитрата) и кетогенеза (например, соотношение ацетата и ацетоацетата), к анализируемым данным были добавлены физиологически значимые соотношения (Таблица 3.41).

Таблица 3.41 – Сводные данные по рассчитанным соотношениям метаболитов (дополненный набор параметров, связанных с метаболическим статусом пациентов)

Соотношение аминокислот	Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	Соотношение аминокислот	Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>
Ala/Gln	0.58	0.45 - 0.67	Ala/Leu	1.54	1.19 - 1.94
Ala/Ile	3.98	2.99 - 5.08	Ala/Tyr	4.23	3.51 - 5.03
Ala/Val	1.11	0.90 - 1.39	Gln/Leu	2.77	2.24 - 3.24
Gln/Ile	7.10	5.58 - 8.47	Gln/Tyr	7.51	6.34 - 9.85
Gln/Val	2.06	1.68 - 2.38	Ile/Leu	0.38	0.32 - 0.46
Ile/Tyr	1.08	0.87 - 1.40	Ile/Val	0.29	0.25 - 0.35
Leu/Tyr	2.71	2.25 - 3.21	Leu/Val	0.74	0.69 - 0.84
Tyr/Val	0.27	0.23 - 0.33	Ala/Cit	4.61	2.27 - 7.95
Ala/Pyr	3.9	2.6 - 7.5	Ala/Glc	0.057	0.049 - 0.070
Glc/Cit	80	42 - 128	Gln/Cit	9.7	4.5 - 13.8
Glc/Pyr	65	49 - 125	Gln/Glc	0.102	0.090 - 0.120
Gln/Pyr	7	5 - 12	Lac/Ala	6.53	5.27 - 9.01
Lac/Cit	32	16 - 55 -	Lac/Glc	0.38	0.31 - 0.53
Lac/Gln	3.92	3.02 - 5.27	Lac/Pyr	27	18 - 46
Pyr/Cit	0.90	0.58 - 1.36	AcO/AcAcO	0.23	0.12 - 0.32
n3_HBut/AcAcO	2.43	1.84 - 2.97	n3_HBut/AcO	11	6 - 19
Ile/Glc	0.014	0.012 - 0.017	Leu/Glc	0.036	0.032 - 0.045
Val/Glc	0.048	0.043 - 0.057	Gln/Glu	2.93	2.41 - 3.46

Примечание: Ala\_Gln = аланин / глутамин, Ala\_Leu = аланин / лейцин, Ala\_Ile = аланин / изолейцин, Ala\_Tyr = аланин / тирозин, Ala\_Val = аланин / валин, Gln\_Leu = глутамин / лейцин = глутамин / лейцин, / Тирозин, Gln\_Val = глутамин / валин, Ile\_Leu = изолейцин / лейцин, Ile\_Tyr = изолейцин / тирозин, Ile\_Val = изолейцин / валин, Leu\_Tyr = лейцин / тирозин, Leu\_Val = лейцин / валин, тирозин\_Val = лейцин / валин, тирозин\_Val, Ala\_Pyr = аланин / пируват, Ala\_Glc = аланин / глюкоза, Glc\_Cit = глюкоза / цитрат, Gln\_Cit = глутамин / цитрат, Glc\_Pyr = глюкоза / пируват, Gln\_Glc = глутамин / пируват, Gln\_Pyr\_A, глутамин, = лактат / цитрат, Lac\_Glc = лактат / глюкоза, Lac\_Gln = лактат / глутамин, Lac\_Pyr = лактат / пируват, Pyr\_Cit = пируват / цитрат, AcO\_AcAcO = ацетат / ацетоуксусной кислоты, n3\_HBut\_AcAcO = n3\_Hydroxybutyrate / ацетоуксусной кислоты, n3\_HBut\_AcO = n3\_Hydroxybutyrate / ацетат, Ile\_Glc = изолейцин / Глюкоза, Leu\_Glc = лейцин / глюкоза, Val\_Glc = валин / глюкоза, Gln\_Glu = глутамин / глутамат

Для изучения связей между метаболитами и их соотношениями был использован метод линейной регрессии с учетом возможного влияния предполагаемых конфаундеров (возраст и ИМТ), при котором метаболиты использовались в качестве зависимой переменной, а СА 125 - в качестве предиктора исхода. Чтобы обеспечить прямое сравнение величины ассоциаций между всеми метаболитами и их отношениями, было выполнено масштабирование значений. На Рисунке 3.48 показана сводная информация по всем моделям: данные отсортированы в порядке убывания стандартизованных значений коэффициентов закрашенные точки соответствуют статистически значимым ассоциациям (для статистической значимости  $p$  учтена поправка на множественное тестирование гипотез).

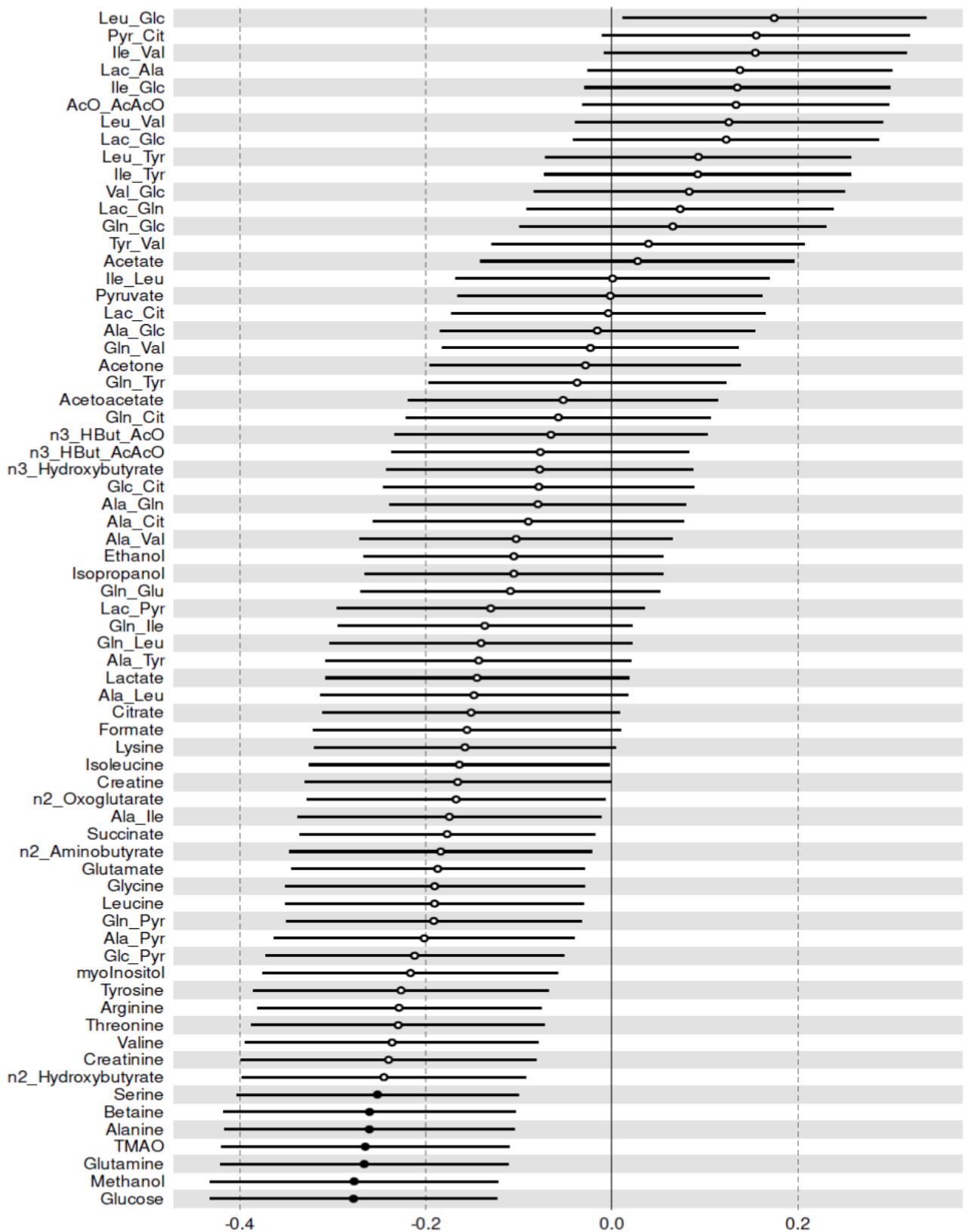


Рисунок 3.48 – Форест-диаграмма, обобщающая все рассчитанные регрессионные модели. Модели отсортированы по их стандартизированным коэффициентам (ось X). Статистически значимые (после корректировки на множественное тестирование) модели выделены (закрашенные точки)

Характеристики модели для каждого статистически значимо измененного метаболита (Рисунок 3.48) представлены в Таблице 3.42 и на Рисунке 3.49.

Таблица 3.42 – Сводные данные по регрессионным моделям (показатели статистической значимости выявленных метаболитов плазмы крови), показанным на рисунке 3.49

Метаболит	SD	F-критерий	Adjusted R <sup>2</sup>	Хи-квадрат
Глюкоза	-0.277(0.078)	4.483	0.137	0.0008
Метанол	-0.277(0.079)	4.267	0.129	0.0008
Глутамин	-0.266(0.079)	4.261	0.129	0.001
Триметиламин N-оксид	-0.265(0.078)	4.456	0.136	0.001
Аланин	-0.261(0.079)	4.036	0.121	0.002
Бетаин	-0.260(0.080)	3.606	0.106	0.002
Серин	-0.252(0.077)	5.548	0.171	0.002

Примечание: F-критерий – критерий Фишера.

На графиках рассеяния с линиями регрессии, иллюстрирующими статистически значимые зависимости СА 125 от концентраций метаболитов, показана обратно пропорциональная корреляционная взаимосвязь между уровнем метаболитов плазмы крови и СА125 при III-IV стадиях РЯ ВСЗ (Рисунок 3.49).

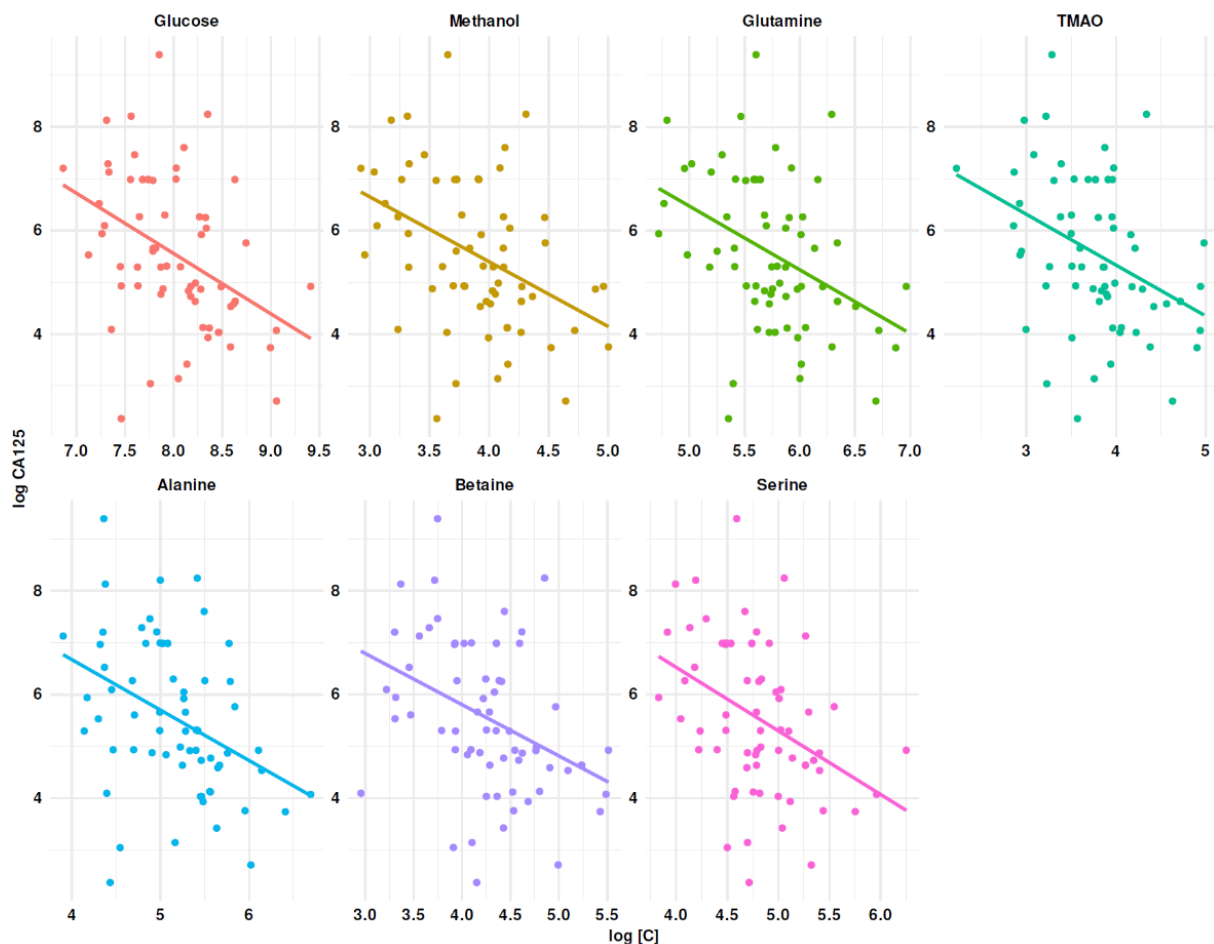


Рисунок 3.49 – Графики рассеяния с линиями регрессии, иллюстрирующими статистически значимые зависимости СА 125 от концентраций метаболитов. Примечание: Glucose – глюкоза, Methanol – метанол, Glutamine – глутамин, ТМАО - триметиламин N-оксид (триметиламин N-оксид), Alanine – аланин, Betaine – бетаин, Serine - серин

Таким образом, уровни СА 125 в крови пациентов с распространенными стадиями заболевания обратно пропорционально взаимосвязаны с содержанием глюкозы, глутамина, аланина, бетаина и серина.

### 3.2.6 Характеристика спектра экзосомальных микроРНК плазмы крови методом при раке яичников и эндометриоидных кистах

Для изучения особенностей экспрессии экзосомальных микроРНК при РЯ при ЭКЯ в одноцентровое обсервационное (поперечное) исследование [19] были включены пациенты с серозным распространенным РЯ ВСЗ III-IV стадий по классификации FIGO (n=7) и с ЭКЯ (n=6) при распространенном наружном генитальном эндометриозе III-IV стадий по классификации rARSM (the revised American Society for Reproductive Investigation). Пациенты с серозным РЯ были значимо старше пациентов с РНГЭ ( $p < 0,001$ , F-критерий Уэлча), однако, сопоставимы с ними по ИМТ ( $p=0,056$ , t-критерий Стьюдента). Для образцов крови пациентов исследуемых групп были подобраны образцы крови групп контроля, состоящих из наблюдаемых постменопаузального (n=6) и репродуктивного возраста (n=5), соответственно, сопоставимых с пациентами исследуемых групп по возрасту и ИМТ. При попарном сравнении пациенты с пролиферативными процессами и наблюдаемые групп контроля были сопоставимы по возрасту и ИМТ ( $p=0,53$  для «ЭКЯ-Контроль»,  $p=0,589$  для «РЯ - Контроль», t-критерий Стьюдента).

По данным секвенирования в экзосомах было выявлено 480 микроРНК с различной представленностью в группах сравнения. Списки дифференциально экспрессирующихся микроРНК (ДЭМ), а также кратность и направление изменений представлены в Таблице 3.43 и на Рисунке 3.50.

Таблица 3.43 - Экзосомальные микроРНК, экспрессия которых изменялась в два и более раз в исследуемых в группах сравнения («РЯ – Контроль», «ЭКЯ – Контроль», «РЯ – ЭКЯ», «Контроль РЯ – Контроль ЭКЯ»)

РЯ – Контроль							
микроРНК	УКП	КИ	$p_{adj}$	микроРНК	УКП	КИ	$p_{adj}$
miR-100-5p	416	2,4	9,7E-02	let-7b-5p	45120	-1,8	5,3E-02
miR-141-3p	19	11,7	2,3E-03	miR-4508	36	-2,9	9,8E-03
miR-148a-5p	40	2,5	1,1E-02				
miR-199a-5p	306	2,5	4,8E-02				
miR-200a-5p	16	9,7	5,4E-03				
miR-200b-5p	10	9,9	6,9E-04				
miR-224-5p	198	2,6	5,4E-03				
miR-296-3p	13	7,6	9,8E-03				
miR-429	14	9,5	5,4E-03				
miR-4488	194	16,7	2,2E-05				
miR-4516	10	4,5	2,4E-02				
miR-708-3p	12	4,8	9,7E-02				
<b>miR-200b-3p</b>	53	21,5	2,0E-09				
<b>miR-203a-3p</b>	41	4,6	1,1E-02				

Продолжение Таблицы 3.43

ЭКЯ – Контроль							
микроРНК	УКП	КИ	P-adj	микроРНК	УКП	КИ	Padj
miR-4732-5p	237	2,6	1,5E-03	<i>miR-758-3p</i>	23	-2,4	5,3E-02
miR-4732-3p	68	2,5	2,5E-02	miR-493-3p	184	-2,3	4,3E-02
miR-3184-3p	35120	2,4	7,5E-05	miR-379-5p	161	-2,3	5,3E-02
miR-423-5p	35039	2,4	7,5E-05	<i>miR-335-5p</i>	33	-2,3	4,9E-02
<i>miR-939-5p</i>	10	2,4	6,0E-02	<i>miR-145-3p</i>	28	-2,3	1,2E-02
miR-486-5p	92770	2,3	2,5E-02	<i>miR-493-5p</i>	117	-2,2	6,7E-02
miR-505-5p	80	2,2	8,7E-03	<i>miR-381-3p</i>	654	-2,2	7,9E-02
<i>miR-1285-3p</i>	93	2,2	4,0E-02	<i>miR-411-5p</i>	54	-2,2	7,9E-02
<i>miR-3913-3p</i>	22	2,2	5,3E-02	<i>miR-146a-5p</i>	4926	-2,2	5,8E-02
miR-3615	116	2,1	4,7E-02	miR-223-3p	314	-2,1	5,3E-02
miR-3913-5p	21	2,1	6,9E-02	<i>miR-127-3p</i>	133	-2,1	5,3E-02
<i>miR-18a-3p</i>	30	2,1	6,9E-02	<i>miR-370-3p</i>	892	-2,0	9,4E-02
<i>miR-2110</i>	243	2,0	4,7E-02	miR-10a-3p	23	-2,0	7,9E-02
miR-1843	68	2,0	6,9E-02	miR-199b-3p	547	-1,9	9,4E-02
miR-484	1324	2,0	3,0E-03	miR-95-3p	146	-1,9	2,9E-02
miR-1180-3p	453	2,0	7,9E-02	miR-28-5p	331	-1,8	7,9E-02
miR-3158-3p	895	1,9	8,5E-02	miR-30b-5p	150	-1,8	9,4E-02
miR-629-5p	2131	1,9	4,9E-02	miR-10b-3p	36	-1,8	5,8E-02
miR-550a-5p	130	1,9	4,0E-02	miR-338-5p	83	-1,8	4,3E-02
<i>miR-486-3p</i>	773	1,9	7,9E-02	miR-664a-5p	62	-1,8	7,2E-02
miR-25-3p	32685	1,8	6,5E-02	miR-152-3p	95	-1,7	9,4E-02
miR-16-2-3p	1181	1,7	9,4E-02	miR-30e-3p	1619	-1,7	5,8E-02
miR-942-5p	51	1,7	9,4E-02	miR-126-3p	210867	-1,7	4,0E-02
miR-425-5p	1622	1,6	9,4E-02	miR-146b-5p	4622	-1,7	1,6E-02
let-7d-3p	817	1,6	7,3E-02	miR-26a-5p	110347	-1,6	9,9E-02
				miR-126-5p	409	-1,6	2,5E-02
				miR-155-5p	1094	-1,6	8,5E-02
				miR-27b-3p	3112	-1,5	5,3E-02
РЯ - ЭКЯ							
микроРНК	УКП	КИ	Padj	микроРНК	УКП	КИ	Padj
miR-4488	361	23,9	1,8E-06	let-7b-5p	82485	-1,7	5,5E-02
miR-429	26	12,4	2,6E-05	miR-93-5p	477	-1,7	7,0E-02
<i>miR-125b-1-3p</i>	10	12,0	3,0E-06	miR-26b-5p	1969	-1,8	8,1E-02
miR-200a-5p	31	11,7	2,6E-05	miR-17-5p	305	-1,8	8,6E-02
miR-141-3p	36	10,2	2,4E-03	miR-20a-5p	286	-1,8	2,1E-02
miR-296-3p	24	8,9	4,6E-03	miR-363-3p	3254	-1,9	2,2E-02
miR-708-3p	21	8,8	2,6E-04	miR-101-3p	3158	-1,9	5,4E-02
miR-4516	17	8,4	1,8E-04	miR-484	808	-1,9	5,5E-02
miR-200b-5p	19	6,3	2,2E-02	miR-25-3p	19344	-2,0	9,7E-02
<i>miR-122-5p</i>	13949	4,7	4,3E-02	<i>miR-16-5p</i>	1906	-2,0	7,0E-02
<i>miR-504-5p</i>	19	3,4	5,7E-02	<i>miR-185-5p</i>	1796	-2,0	3,5E-02
<i>miR-218-5p</i>	20	3,1	2,2E-02	miR-4508	50	-2,0	1,0E-01
<i>miR-320d</i>	14	3,0	1,9E-02	miR-144-3p	705	-2,1	1,2E-02
<i>miR-483-5p</i>	54	2,7	9,6E-02	miR-505-5p	49	-2,2	2,1E-02
miR-100-5p	754	2,6	5,3E-02	miR-3913-3p	13	-2,5	5,2E-02
miR-10b-3p	31	2,5	1,4E-02	miR-4732-3p	41	-2,6	4,8E-03
<i>miR-181d-5p</i>	66	2,4	2,1E-02	<i>miR-144-5p</i>	138	-2,7	4,8E-03

Продолжение Таблицы 3.43

Контроль-РЯ - Контроль-ЭКЯ							
микроРНК	УКП	P-adj	КИ	микроРНК	УКП	P-adj	КИ
miR-3184-3p	16233	1,6E-02	2,2	miR-11400	160	9,9E-02	-2,4
miR-3615	63	2,3E-02	2,3	miR-199a-5p	423	2,3E-02	-2,5
miR-423-5p	16378	1,6E-02	2,2	miR-199b-3p	264	6,6E-02	-2,0
miR-4508	58	1,6E-02	2,3	miR-223-3p	150	3,2E-02	-2,3
miR-4732-5p	106	1,6E-02	2,3	miR-224-5p	277	2,3E-02	-2,5
miR-484	573	9,1E-02	1,6	miR-379-5p	78	3,2E-02	-2,4
<i>miR-107</i>	511	9,1E-02	1,9	miR-493-3p	84	1,6E-02	-2,7
<i>miR-451a</i>	341777	9,1E-02	1,9	<i>let-7f-5p</i>	12030	7,5E-02	-1,7
				<i>miR-103a-3p</i>	302	2,3E-02	-2,1
				<i>miR-103b</i>	309	3,2E-02	-1,9
				<i>miR-134-5p</i>	46	3,1E-02	-2,3
				<i>miR-151a-3p</i>	13120	5,5E-02	-2,0
				<i>miR-191-5p</i>	3666	6,6E-02	-1,8
				<i>miR-199a-3p</i>	260	7,5E-02	-2,0
				<i>miR-200c-3p</i>	52	1,6E-02	-2,4
				<i>miR-330-3p</i>	31	6,6E-02	-2,1
				<i>miR-340-5p</i>	204	8,3E-02	-1,8
				<i>miR-382-5p</i>	78	6,6E-02	-2,1
				miR-11400	160	9,9E-02	-2,4
				miR-199a-5p	423	2,3E-02	-2,5
				miR-199b-3p	264	6,6E-02	-2,0
				miR-223-3p	150	3,2E-02	-2,3
				miR-224-5p	277	2,3E-02	-2,5

Примечание: Курсивом обозначены уникальные микроРНК, выявленные при пересечении списков ДЭМ для каждой группы сравнения («РЯ – Контроль», «ЭКЯ – Контроль», «РЯ – ЭКЯ», «Контроль РЯ – Контроль ЭКЯ»). УКП – усредненное количество прочтений, *adj* – скорректированное значение «р», КИ – кратность измерения

Среди выявленных ДЭМ, дифференцирующих пациентов от добровольцев репродуктивного возраста группы контроля (Рисунок 3.50 А), 22 демонстрировали кратность изменений в 2 и более раз при ЭКЯ: 14 ДЭМ с повышенной и 8 ДЭМ с пониженной экспрессией. При РЯ были получены статистически значимые различия экспрессии 13 микроРНК (повышение 12 ДЭМ, снижение 1 ДЭМ), которые дифференцировали пациентов от добровольцев постменопаузального возраста группы контроля (Рисунок 3.50 Б), наибольшая кратность изменений наблюдалась для miR-200b-3p, miR-4488, miR-141-3p (увеличение в 21,5, 16,7 и 11,7 раз, соответственно). Также была проведена оценка различий представленности микроРНК в экзосомах крови больных РЯ и ЭКЯ. Было выявлено 27 ДЭМ, из которых 18 с повышенной и 9 с пониженной экспрессией в два и более раз соответственно (Таблица 3.40, Рисунок 3.50 В).

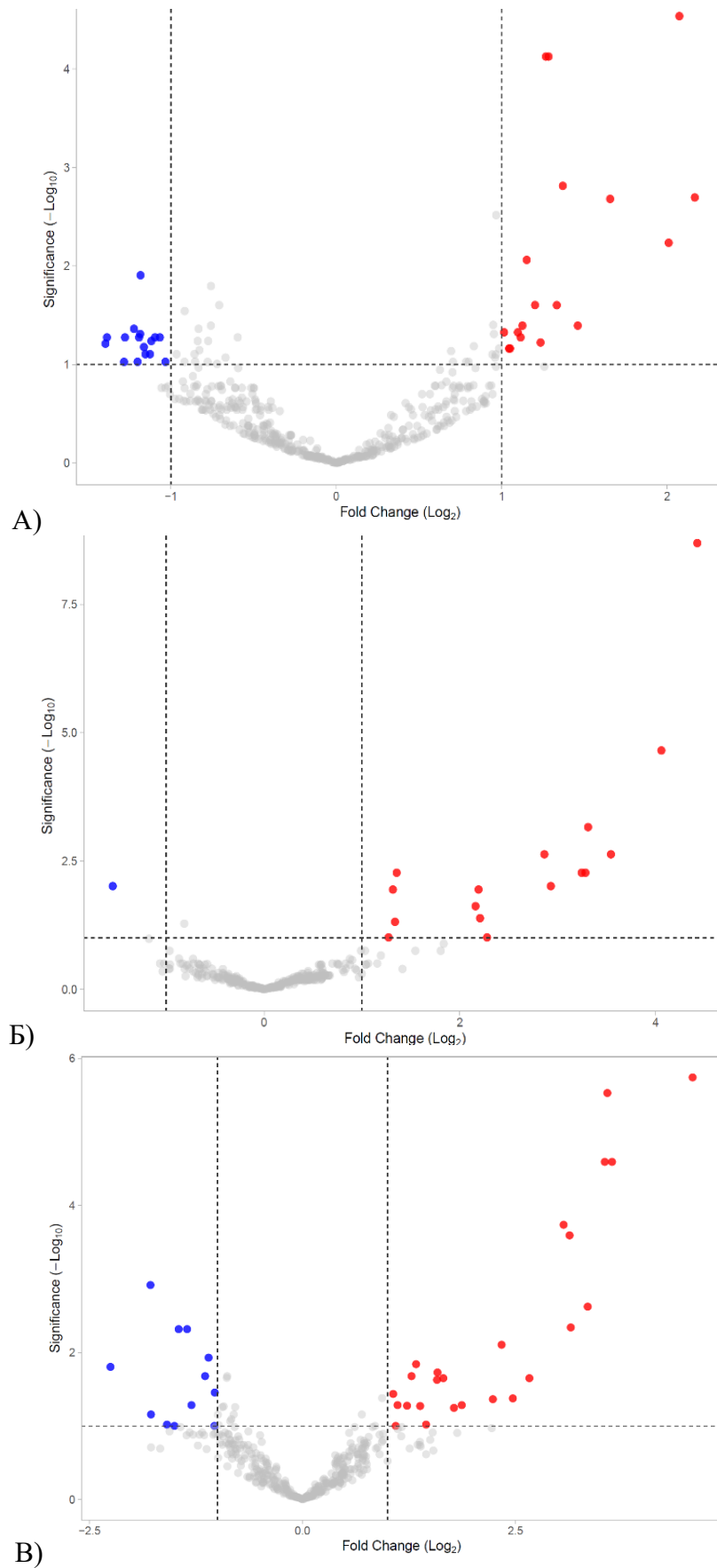


Рисунок 3.50 – Дифференциальная экспрессия экзосомальных микроРНК в группах сравнения: А) «ЭКЯ» – «Контроль - ЭКЯ», Б) «РЯ» – «Контроль - РЯ», В) «РЯ - ЭКЯ»



Таблица 3.44 - ДЭМ - потенциальные маркеры РЯ и ЭКЯ

"РЯ" - "Контроль-РЯ"				"ЭКЯ" - "Контроль-ЭКЯ"			
микроРНК	УКП	P-adj	КИ	микроРНК	УКП	P-adj	КИ
miR-200b-3p	53	2,0E-09	21,5	miR-92b-5p	38	2,9E-05	4,2
miR-4488	194	2,2E-05	16,7	miR-4732-5p	237	1,5E-03	2,6
miR-141-3p	19	2,3E-03	11,7	miR-3184-3p	35120	7,5E-05	2,4
miR-203a-3p	41	1,1E-02	4,6	miR-423-5p	35039	7,5E-05	2,4
miR-224-5p	198	5,4E-03	2,6	miR-486-5p	92770	2,5E-02	2,3
miR-199a-5p	306	4,8E-02	2,5	-	-	-	-

Примечание: УКП – усредненное количество прочтений,  $p_{adj}$  – скорректированное значение «р», КИ – кратность измерения

Кроме уникальных ДЭМ в представленные списки были добавлены ДЭМ, которые встречались в парах сравнения «РЯ-ЭКЯ» и «Контроль – РЯ» – «Контроль - ЭКЯ». Так, для РЯ маркерные ДЭМ miR-199a-5p и miR-224-5p выявлялись также при сравнении контрольных групп разного возраста. С учетом распространенности РЯ преимущественно в постменопаузальном возрасте, использование данных ДЭМ в качестве маркеров не будет приводить к ложноположительным результатам. Тем не менее возрастной фактор необходимо учитывать при их потенциальном использовании.

Полученные в ходе исследования списки ДЭМ были использованы для поиска потенциальных генов-мишеней в базе данных MirTarBase v. 7.0. Поскольку микроРНК теоретически могут реализовывать взаимодействия с большим количеством матричных РНК (мРНК), по результатам поиска отбирались только наиболее вероятные пары «микроРНК – мРНК», взаимодействие которых было установлено с высокой степенью валидации (подтвержденные одновременно методами qPCR, WesternBlot, reporter assay kit и др. по данным MirTarBase). Полученные таким образом наборы генов-мишеней были использованы для анализа представленности функциональных групп генов (gene set enrichment analysis) по базе данных WikiPathways. На основании статистических параметров значимости и достоверности выбора наборов генов-мишеней для того или иного процесса (XD, q-value [83]) и их представленности для каждой группы сравнения были отобраны пути, из которых были выделены списки наиболее представленных в двух группах сравнения. Параметр XD указывает насколько значимо изучаемый список генов интегрируется в тот или иной процесс, реализуемый определенной сетью молекулярных взаимодействий. Параметр q представляет собой скорректированное значение достоверности (p) для параметра XD. Отобранные пути для групп сравнения представлены в Таблице 3.45.

Таблица 3.45 - Сигнальные пути, включающие гены-мишени выявленных ДЭМ

Пути и процессы	n генов в пути	ЭКЯ - Контроль			РЯ - Контроль		
		XD	q	n генов пути в плазме	XD	q	n генов пути в плазме
<i>DNA damage response (DDR)</i> - путь, ассоциированный с повреждением ДНК	15	3,97	6,4E-07	10	3,47	6,0E-06	7
<i>Integrated Cancer pathway</i> - единый путь канцерогенеза	34	2,93	1,2E-09	18	1,91	3,1E-06	10
<i>IL-6 signaling pathway</i> - путь интерлейкина-6	42	2,60	1,2E-09	20			
<i>Leptin signaling pathway</i> - путь лептина	61	2,33	1,1E-11	27	1,33	6,7E-07	14
<i>TP53 network</i> - путь фактора p53	19	2,13	7,1E-05	9	1,64	2,2E-03	5
<i>Angiogenesis</i> - путь ангиогенеза	23	2,11	6,1E-05	10	1,62	7,2E-04	6
<i>IL-7 signaling pathway</i> - путь интерлейкина-7	24	2,11	1,3E-05	11	1,14	6,1E-03	5
<i>DNA damage response (ATM)</i> - путь ответа на повреждение ДНК (опосредован ATM-киназой)	81	2,00	1,5E-13	34	0,71	3,8E-05	13
<i>IL-2 Signaling pathway</i> - путь интерлейкина-2	41				1,90	5,9E-07	12
<i>IL-5 signaling pathway</i> - путь интерлейкина-5	39	1,83	7,1E-07	16	1,58	1,0E-05	10
<i>Estrogen signaling pathway</i> - сигнальный путь эстрогенового рецептора	20	1,74	7,4E-04	8	1,07	2,1E-02	4
<i>TGF Beta Signaling Pathway</i> - путь трансформирующего фактора роста-бета	57	1,64	8,6E-08	21	0,85	1,8E-04	10
<i>Androgen receptor signaling pathway</i> - сигнальный путь андрогенового рецептора	88	1,57	3,3E-11	32	1,11	1,1E-07	18
<i>IL-4 signaling pathway</i> - путь интерлейкина-4	49	1,43	3,8E-06	17	0,92	2,9E-04	9
<i>IL-9 signaling pathway</i> - путь интерлейкина-9	15	1,43	1,9E-02	5	1,07	4,7E-02	3
<i>Cell Differentiation – meta</i> - путь клеточной дифференцировки	19	1,27	1,3E-02	6	0,69	7,7E-02	3
<i>Kit receptor signaling pathway</i> - путь рецептора тирозинкиназы <i>Kit</i>	53	1,20	1,1E-05	17	1,14	2,2E-05	11
<i>Senescence and Autophagy</i> - путь старения и аутофагии	95	1,11	2,1E-08	29	0,69	1,2E-05	15
<i>DNA damage response</i> - путь ответа на повреждение ДНК	66	1,10	1,1E-06	21	0,90	2,9E-05	12
<i>IL-3 Signaling Pathway</i> - путь интерлейкина-3	44				0,90	7,6E-04	8

Среди клеточных процессов и сигнальных каскадов особенного внимания заслуживают пути, активируемые эстрогенами и андрогенами, факторами роста и морфогенными регуляторами. Также, была выявлена группа путей, контролируемых интерлейкинами (*IL-2,-3,-4,-5,-6,-7,-9*), которые могут участвовать в регуляции воспалительных процессов при формировании очагов патологического процесса при раке и эндометриозе. Также были установлены внутриклеточные процессы, участвующие в регуляции репарации ДНК при ее повреждении. Обращает на себя внимание обогащение с высоким значением параметра XD по

регуляторным путям, ассоциированным с повреждением ДНК, реализующимся при участии микроРНК (miRNA involved in DDR). Активация указанных путей, а также сигнализация, опосредованная интерлейкинами, TP53 и факторами роста может свидетельствовать о развитии воспалительного процесса и окислительного стресса в местах формирования исследованных экзосом. Повреждение ДНК, в свою очередь, может быть фактором, индуцирующим процессы апоптоза, аутофагии и клеточного старения, которые также были выявлены в результате обогащения списков генов-мишеней дифференциально экспрессированных микроРНК.

По генам-мишеням микроРНК в обеих парах сравнения достоверно выявлялся интегральный опухолевый путь (Integrated Cancer Pathway, Рисунок 3.52).

Last modified: 10/16/2013  
 Organism: Homo sapiens

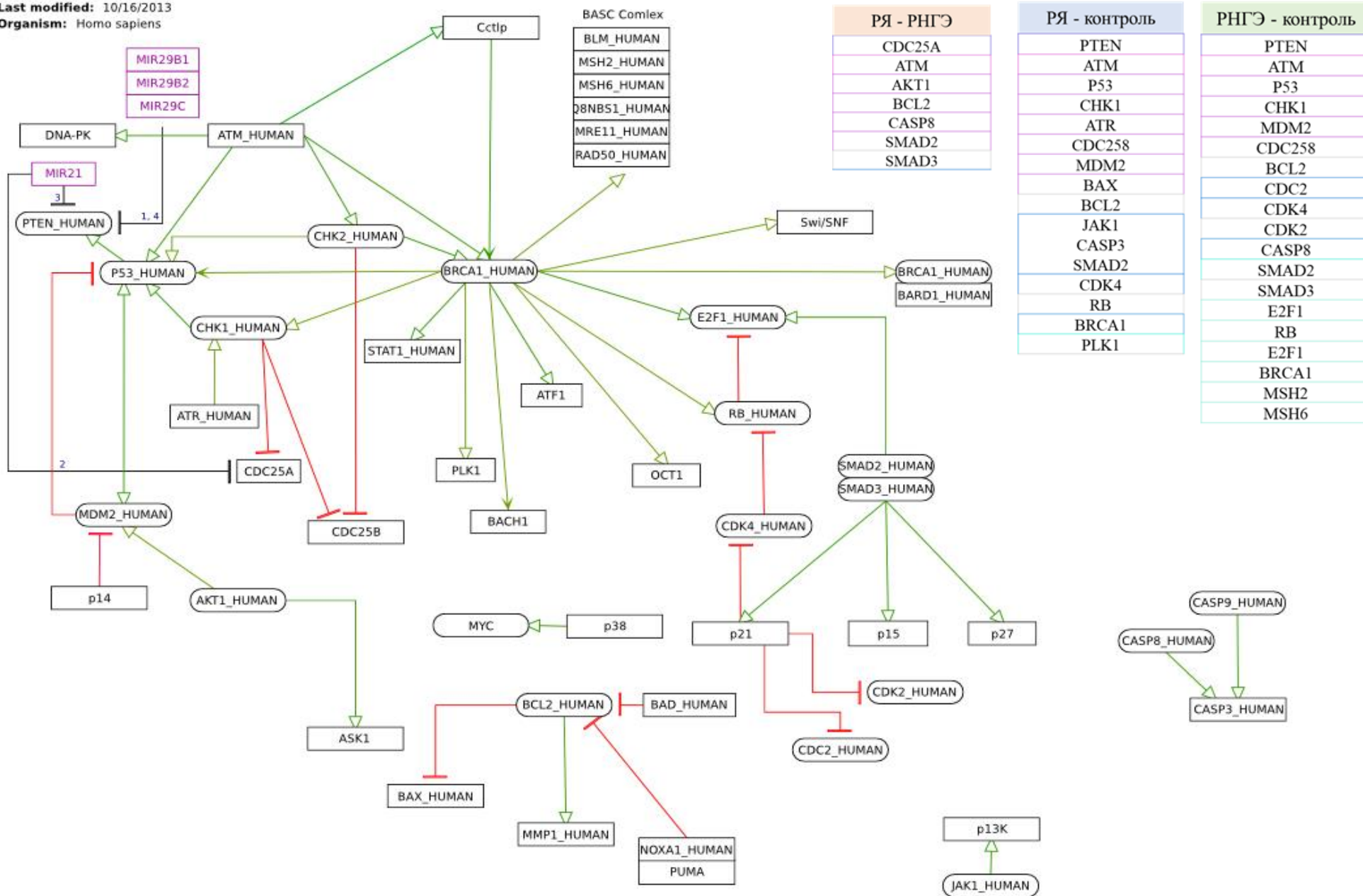


Рисунок 3.52 - Сравнение функциональной активности таргетных генов в регуляции интегрированного сигнального пути в исследуемых группах

В обеих группах были выявлены следующие гены-мишени, участвующие в данном пути: AKT1, ATM, BARD1, BAX, BCL2, BRCA1, CASP3, CDK4, CHEK1, CHEK2, JAK1, MDM2, PLK1, PTEN, RB1, SMAD2, SMAD3, TP53. Анализ функциональных взаимодействий показал многочисленные взаимосвязи между выявленными генами-мишенями микроРНК, что указывает на их существенный вклад и совместную вовлеченность в процессы опухолевого роста. Функциональная кластеризация генов-мишеней показала их участие в процессах регуляции клеточного цикла, сигнальных путей репарации ДНК, путях, активируемых эстрогенами и андрогенами, факторами роста и интерлейкинами. На Рисунке 3.53 показана кластеризация и взаимосвязь генов-мишеней, а также их участие в клеточных процессах и путях внутриклеточной сигнализации.

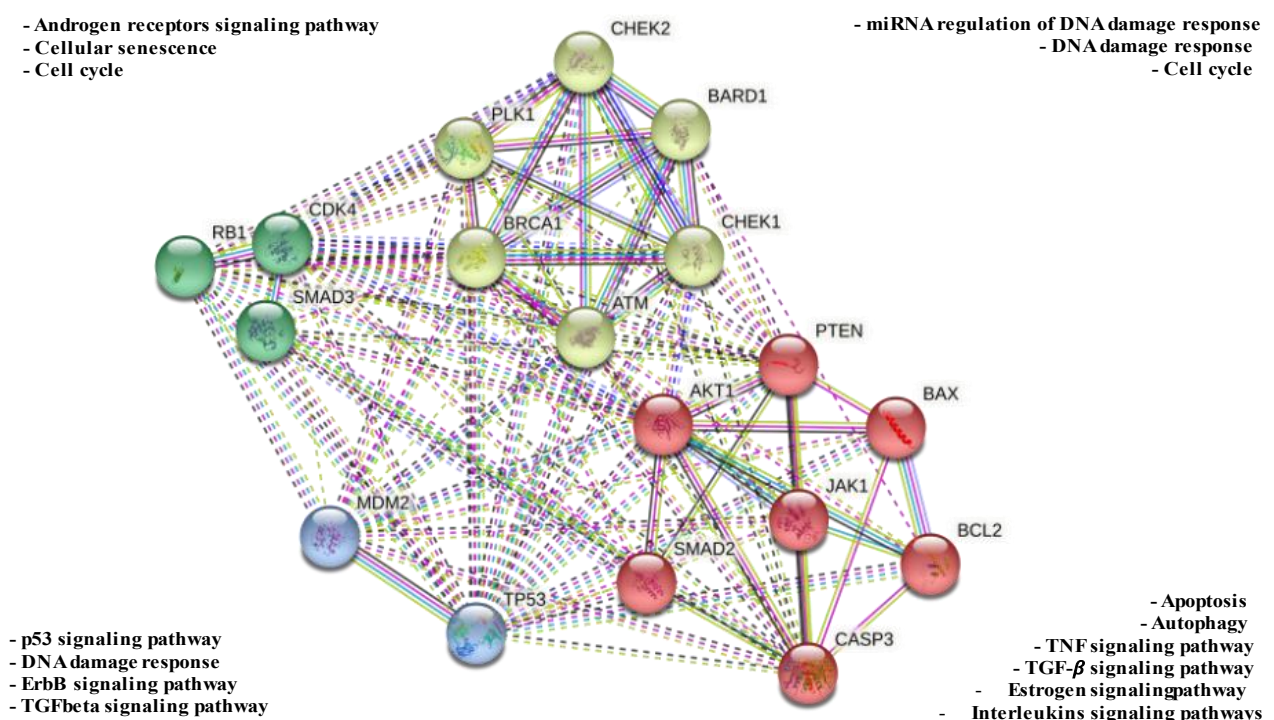


Рисунок 3.53 - Анализ функциональных взаимодействий генов интегрированного опухолевого пути (*RB1, CDK4, SMAD3; MDM2, TP53; CHEK2, BARD1, CHEK1, ATM, BRCA1, PLK1; PTEN, BAX, BCL2, CASP3, JAK1, SMAD2, AKT1*), являющихся мишенями ДЭМ

Таким образом, по данным биоинформационного анализа экзосомальных микроРНК плазмы крови пациентов с РЯ ВСЗ и ЭКЯ при РНГЭ, были предложены потенциальные маркеры исследуемых заболеваний: miR-141-3p, -199a-5p, -200b-3p, -203a-3p, -224-5p, -4488 (повышены при РЯ), miR-4732-5p, -423-5p, -92b-5p (повышены при ЭКЯ). Выявление уникальных ДЭМ в экзосомах плазмы крови свидетельствует о наличии специфичных изменений профиля микроРНК, характерного для РЯ и ЭКЯ. Перечисленные экзосомальные микроРНК могут рассматриваться в качестве кандидатов в маркеры изученных пролиферативных процессов. Многочисленные взаимосвязи между выявленными генами-мишенями микроРНК указывают на их существенный вклад и совместную вовлеченность в процессы пролиферативной активности при РЯ и ЭКЯ.

### Резюме

В результате проведенных исследований было показано, что омиксные позволяют с высокой точностью находить решение поставленных клинических и фундаментальных задач. Анализ липидных профилей крови при помощи ВЭЖХ-МС позволяет дифференцировать образцы пациентов с разными ООВОЯ, что дает право предлагать его для дальнейшего исследования и применения в качестве метода неинвазивной диагностики различных опухолей яичников, в том числе ранних стадий РЯ ВСЗ. Метод ядерного магнитного резонанса не только позволяет на молекулярном уровне установить различия содержания метаболитов у пациентов с разными стадиями РЯ ВСЗ, но и выявить изменения ряда метаболитов (глюкоза, глутамин, аланин, бетаин и серин), характерного при изменении содержания муцина СА 125. При помощи секвенирования образцов крови были выявлены микроРНК – потенциальные маркеры двух пролиферативных процессов яичников, а именно рака яичников и эндометриоза. Обобщенные данные о диагностической точности клинических инструментально-лабораторных методов и исследуемых омиксных технологий приведены в Таблице 3.46.

Таблица 3.46 – Результаты клинического инструментально-лабораторного и экспериментального этапов диссертационного исследования

Образования яичника (-ов)	ДОЯ			ПОЯ n=30	ЗОЯ			Контроль n=71 <sup>2</sup>
	ЦА n=32	ЭКЯ n=58	ЗТ n=23		РЯ НСЗ n=16	РЯ ВСЗ I-II ст. n=10	РЯ ВСЗ III-IV ст. n=53 <sup>1</sup>	
<b>Симптомы</b>								
боль, %	32,76	37,5	60,87	26,67	31,25	30	36,21	0
нарушение цикла, %	12,5	29,31	13,04	40	25	0	6,9	0
бесплодие, %	3,13	32,76	0	6,67	25	0	6,9	0
увеличение живота, %	0	0	0	0	0	0	17,46	0
слабость, %	0	0	8,7	6,67	0	10	5,17	0
жалоб нет, %	40,63	5,17	17,39	13,33	12,5	50	27,59	100
↑ СА 125, % Se=79,82%, Sp=90,48%	62,5	92,86	60,87	70	87,5	80	97,88	1,41
↑ HE4, % Se=48,15%, Sp=96,9%	6,25	7,14	4,35	3,33	87,5	50	97,35	0
↑ ROMA, % Se=89,13%, Sp=96,4%	3,125	6,89	0	83,3	93,75	90	98,11	4,5
<b>УЗИ ОМТ</b>								
Se, %	96,12			46,15	91,3			н/п
Sp, %	91,6			97,96	93,46			
<b>Модель ADNEX (УЗИ ОМТ + СА 125), ПСР и ОР: Se = 97,3 %, Sp = 98,0 %</b>								
<b>Категория</b>	<b>ВДХП</b>		<b>ВПХП</b>	<b>ВЗХП</b>		<b>ВДХП</b>		
Se, %	70-90	н/з	100	100	83,3- 100	90-100	88,9-100	
Sp, %	53,9-59,2		80-81,3	71,1	72,5- 81,2	74-98,6	60,1-98,1	
<b>Наиболее значимые диагностические модели, построенные на основании липидов</b>								
	<b>vs ПОЯ:</b>		н/з	<b>vs РЯ НСЗ</b>	<b>vs контроль</b>	<b>vs ПОЯ</b>		н/з
Se, %	75	71		70-88	81	81-100	74-98	
Sp, %	80	75		71-82	92	75-86	79-100	
	<b>vs РЯ ВСЗ</b>					н/з	<b>vs РЯ ВСЗ</b>	
Se, %	71-76	88	86	81-92	84		82-86	
Sp, %	90-97	75-94	86	73-86	70		89-100	

**Примечание:** <sup>1</sup> – количество наблюдаемых в клинической части исследования, в исследованиях липидного профиля количество включенных пациентов варьировало (см. текст); <sup>2</sup> – количество наблюдаемых в клинической части исследования (в том числе 45 женщин РВ и 26 – МПВ); в исследованиях липидного профиля количество включенных пациентов варьировало (см. текст); н/п – не применимо; н/з – не значимо, ВДХП – вероятность доброкачественного характера процесса; ВПХП – вероятность пограничной опухоли; ВЗХП – вероятность злокачественного характера процесса.

### **3.3 Предикция исходов проводимого лечения рака яичников на основании данных предоперационной диагностики**

Объем и характер первичного лечения имеют решающее значение в прогнозе выживаемости пациентов с распространенными стадиями РЯ. Наилучшие онкологические результаты лечения обеспечивает выполнение циторедуктивной операции без остаточной опухоли, что по-прежнему представляет собой сложную задачу для клинициста и требует исследования предикторных факторов ее достижения.

#### **3.3.1 Выбор лечебной тактики и прогнозирование периоперационных исходов лечения и выживаемости пациентов с распространенным раком яичников**

Для изучения возможности прогнозирования исходов лечения серозного РЯ III-IV стадий на основании клинико-лабораторных данных предоперационной диагностики в нерандомизированное одноцентровое обсервационное ретроспективное исследование с проспективным набором материала включены 78 пациентов с III-IV стадиями РЯ по классификации FIGO ([47]), которые получили хирургическое лечение по поводу заболевания по одной из схем в период с января 2016 г. по март 2020 г. в отделении инновационной онкологии и гинекологии НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова [12]. Все операции были выполнены хирургом после достижения им кривой обучения по выполнению циторедуктивных операций (в среднем после выполнения 20 ЦРО; в отделении ежегодно выполняется более 800 оперативных вмешательств по поводу злокачественных процессов органов женской репродуктивной системы, в том числе не менее 50 циторедуктивных операций по поводу злокачественных новообразований яичников, брюшины или маточной трубы). У всех пациентов гистологически верифицирован серозный РЯ ВСЗ.

Для проведения данного исследования были собраны и проанализированы следующие клинические данные о пациентах с серозным раком яичников: возраст и ИМТ, проведен анализ жалоб пациентов, данных соматического (в соответствии с американской шкалой общества анестезиологов (ASA, American Society of Anesthesiologists physical status classification system) [23]), индексом коморбидности Чарльсон (предложен М. Е. Charlson и соавт. в 1987 г. [62]) и нутритивным статусом (ПНИ, рассчитанный на основании содержания альбумина в крови [238], [197]), и онкологического анамнеза (наличие наследственной предрасположенности или мутации в генах BRCA), а также других данных лабораторных и инструментальных методов неинвазивной, малоинвазивной и инвазивной диагностики (объем асцитической жидкости, рассчитаны индексы перитонеального канцероматоза (ИПК, [54]), данные цитологического и гистологического исследования).

После выполнения УЗИ органов малого таза и исследования уровней онкомаркеров крови, пациентам проводилось уточняющее диагностическое исследование, а именно МРТ и (или) КТ

органов малого таза и брюшной полости с контрастированием, проводилась гистологическая верификация опухоли при помощи трепан-биопсии или при лапароскопическом доступе в процессе стадирующей операции.

Комбинированное лечение заключалось в выполнении хирургического и химиотерапевтического этапов: первую группу составили 54 пациента, которым после ПЦРО была проведена платиносодержащая ХТ, вторую группу составили 24 пациента, которым на первом этапе лечения были проведены 3-4 курса НАХТ, затем принималось решение о возможности выполнения интервальной циторедуктивной операции с последующими 3 курсами консолидирующей химиотерапии или пролонгирования НАХТ до 6 курсов платиносодержащей ХТ (карбоплатин АУС 6 + паклитаксел 175 мг/м<sup>2</sup>). Эталонным результатом хирургического этапа считалось достижение полной циторедукции без оставления видимых проявлений опухолевого процесса. Распределение пациентов по подгруппам в зависимости от первого этапа лечения и результата ЦРО приведены в Таблице 3.47.

Таблица 3.47 – Подгруппы пациентов в зависимости от проведенного лечения

Остаточная опухоль	отсутствует, полная ЦРО		≤ 10 мм, оптимальная ЦРО		> 10 мм, неоптимальная ЦРО	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<b>Первый этап лечения</b>						
ПЦРО	38	70,37	12	22,22	4	7,41
НАХТ	14	58,33	8	33,33	2	8,33

Подгруппы были сопоставимы по частоте выполнения операции без остаточной опухоли (полная ЦРО) и с остаточной опухолью размерами до 10 мм (оптимальная ЦРО; ОШ=1,81, 95% ДИ: 0,612 – 5,352,  $p = 0,281$ , *Хи-квадрат Пирсона*). В результате ИЦРО в 1,81 раза были выше шансы выполнения оптимальной ЦРО, чем полной, однако, различия шансов не были статистически значимыми (95% ДИ: 0,612 – 5,352), и сформированные подгруппы были сопоставимы.

На основании гистологического типа опухоли, коморбидности пациента индивидуально подбирались схемы химиотерапевтического лечения, а также очередность его проведения по отношению к хирургическому этапу (неoadьювантная или адьювантная химиотерапия). Всем пациентам проведено химиотерапевтическое лечение под контролем переносимости (гематотоксичность: анемия, нейтропения, тромбоцитопения; нефротоксичность; гастроинтестинальные проявления: тошнота, рвота, диарея) и эффективности.

Проанализированы частота наступления рецидива и длительность ВБП у пациентов, которым была выполнена полная или оптимальная ЦРО. Описанные выше лечебно-диагностические мероприятия и последующее мониторинговое наблюдение выполнялись в соответствии с объемом и сроками, обозначенными в клинических рекомендациях, утвержденных в Российской Федерации [16].

### Клиническая характеристика пациентов

Клиническая характеристика пациентов двух групп (1ая – пациенты после НАХТ, ИЦРО и ХТ, 2ая – пациенты после ПЦРО и ХТ) приведена в Таблице 3.48.

Таблица 3.48 – Клинические характеристики пациентов двух групп

Показатели	НАХТ + ИЦРО + ХТ				ПЦРО + ХТ				p
	M ± SD/Me	95% ДИ / Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	min	max	M ± SD/Me	95% ДИ / Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	min	max	
Возраст, лет, M ± SD	59 ± 12	54 – 65	36	79	53 ± 9	50 – 55	37	72	0,018 <sup>1</sup>
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , Me	24	22 – 31	19	46	25	22 – 28	19	48	0,74
Индекс Чарльсон, баллы коморбидности, Me	8	7 – 8	6	10	7	7 – 8	6	12	0,281
ПНИ, M ± SD *	31	30-36	27	40	30	27 – 32	18	38	0,012 <sup>2</sup>
СА 125, Ед/мл, Me	751	548 – 2109	200	7344	270	116 – 669	10	7318	< 0,001 <sup>2</sup>
ИПК, баллы, Me	9	6 – 14	2	27	9 ± 6	8 – 11	0	27	н/п
Объем асцита, мл, Me	300	125 – 750	0	6500	100	10 – 300	0	4700	0,036 <sup>2</sup>
Количество удаленных ЛУ, Me	0	0	0	39	2	0 – 10	0	40	0,015 <sup>2</sup>
Количество метастатически пораженных ЛУ, Me	0	0	0	11	0	0 – 1	0	28	0,077
Количество курсов НАХТ, Me	3	3 – 5	3	7	-	-	-	-	н/п
Количество курсов адьювантной ХТ, Me	3	2 – 3	1	3	6	6 – 6	0	7	н/п
Время операции, мин, M ± SD	195 ± 62	168 – 223	90	310	240 ± 77	218 – 262	115	385	0,019 <sup>1</sup>
полная (ПЦРО: M ± SD, ИЦРО: Me)	205	169 – 259	p = 0,108		237 ± 77	211 – 262	p = 0,606		
оптимальная (ПЦРО: M ± SD, ИЦРО: Me)	155	140 – 169			250 ± 77	201 – 299			
Объем кровопотери, мл, Me	300	200 – 500	150	800	450	300 – 738	150	3000	0,164
полная, Me	300	200 – 500	p = 0,836		500	225 – 738	p = 0,891		
оптимальная, Me	300	238 – 538			400	300 – 650			
Койко-дни после ЦРО, Me	11	8 – 13	7	25	11	9 – 13	6	28	0,76
<b>Категориальные переменные</b>									
<b>Категория</b>		<b>Значение</b>		<b>НАХТ</b>	<b>ПЦРО</b>	<b>p</b>			
Мутация в генах BRCA ОШ = 0,400; 95% ДИ: 0,08 – 2,002		да		2 (9,1)	10 (20,0)	0,322			
		нет		20 (90,9)	40 (80,0)				
Физический статус пациентов по классификации ASA		II класс		86,4	19	0,163			
		III класс		13,6	3				

Продолжение Таблицы 3.48

Категориальные переменные				
Категория	Значение	НАХТ	ПЦРО	p
Выполнение ЛАЭ ОШ = 0,251; 95% ДИ: 0,080 – 0,785	не выполнялась	17 (77,3)	23 (46)	0,014 <sup>3</sup>
	выполнена	5 (22,7)	27 (54)	
Метастатическое поражение ЛУ ОШ = 0,307; 95% ДИ: 0,079 – 1,183	нет	19 (86,4)	33 (66)	0,076
	да	3 (13,6)	17 (34)	
Группы удаленных ЛУ	поясничные	2 (20,0)	8 (80,0)	0,646
	тазовые	0	4 (100,0)	
	поясничные и тазовые	3 (20,0)	12 (80,0)	
	поясн. **, таз. ***, паховые	0	3 (100,0)	
Группы метастатически пораженных ЛУ	поясничные	2 (33,3)	4 (66,7)	0,552
	тазовые	0	2 (100,0)	
	поясничные и тазовые	1 (12,5)	7 (87,5)	
	поясн. **, таз. ***, паховые	0	2 (100,0)	
Метастатическое поражение брюшины ОШ = 0,632; 95% ДИ: 0,168 – 2,371	нет	26 (61,9)	26 (61,9)	0,697
	да	16 (38,1)	4 (50,0)	
Метастатическое поражение сальника ОШ=2,32; 95% ДИ: 0,808 – 6,666	нет	7 (21,2)	26 (78,8)	0,113
	да	15 (38,5)	24 (61,5)	
Метастатическое поражение кишечника (в т.ч. аппендикса) ОШ = 0,972; 95% ДИ: 0,152 – 6,231	нет	2 (22,2)	7 (77,8)	1,0
	да	5 (21,7)	18 (78,3)	
Метастатическое поражение диафрагмы	нет	1 (25,0)	3 (75,0)	0,550
	поражена брюшина	5 (38,5)	8 (61,5)	
	прорастание	3 (20,0)	12 (80,0)	
Метастатическое поражение других органов (желчный пузырь, селезенка, желудок, почка)	да	21 (32,3)	44 (67,7)	0,427
	нет	1 (14,3)	6 (85,7)	
Опухолевые клетки в смывах (цитологическое исследование) ОШ=2,462, 95% ДИ: 0,784 – 7,732	да	17 (77,3)	29 (58,0)	0,117
	нет	5 (22,7)	21 (42,0)	
Порт для интраперитонеальной ХТ, ОШ=1,23, 95% ДИ: 0,44 – 3,439	да	9 (40,9)	18 (36,0)	0,692
	нет	13 (59,1)	32 (64,0)	
Осложнения, потребовавшие хирургического вмешательства, абс. (%)	да	0	4 (8,0)	0,306
	нет	22 (100,0)	46 (92,0)	
Токсичность химиотерапии, потребовавшая редукции дозы ОШ = 0,829; 95% ДИ: 0,198 – 3,475	нет	19 (31,1)	42 (68,9)	1,0
	да	3 (27,3)	8 (72,7)	
Прием бевацизумаба (ОШ=2,4, 95% ДИ: 0,316 – 18,241)	нет	20 (29,4)	48 (70,6)	0,581
	да	2 (50,0)	2 (50,0)	
Прием олапариба (ОШ=1,421, 95% ДИ: 0,308 – 6,553)	нет	19 (29,7)	45 (70,3)	0,693
	да	3 (37,5)	5 (62,5)	

**Примечания.** \* - Прогностический нутритивный индекс рассчитан в соответствии с формулой:  $10 \times$  альбумин сыворотки крови (г/дл) +  $0.005 \times$  лимфоциты (абсолютное значение,  $\text{мм}^3$ ), предложенной Т. Opodega и соавт. в 1984 г. \*\* - поясничные ЛУ (парааортальные, аортокавальные, паракавальные), \*\*\* - тазовые ЛУ (пресакральные, подвздошные), н/п – не применимо, ЛАЭ – лимфаденэктомия, ЛУ – лимфатические узлы, <sup>1</sup> - t-критерий Стьюдента, <sup>2</sup> - U-критерий Манна-Уитни, <sup>3</sup> - Хи-квадрат Пирсона

В зависимости от наличия данных о манифестации онкологических заболеваний у членов семьи первой или второй линий родства риск наследственной предрасположенности к развитию РЯ оценивался как общепопуляционный, умеренный или высокий.

У большинства пациентов был отмечен общепопуляционный риск развития наследственной формы РЯ, у 6 пациентов был выявлен умеренный риск в связи с указанием на наличие у родственников онкологических заболеваний, перечисленных в Таблице 1.7, и у 4 пациентов был установлен высокий риск. Пациентам было проведено молекулярно-генетическое исследование крови для выявления или исключения клинически значимых герминальных мутаций генов-супрессоров BRCA 1/2 и для подтверждения или опровержения BRCA-ассоциированного РЯ ВСЗ (значимых различий по частоте мутации в группах ПЦРО и ИЦРО не выявлено, Таблица 3.49).

Таблица 3.49 – Риски наследственного РЯ пациентов исследуемых групп в соответствии с отягощенным онкологическим анамнезом

<b>Риск</b>	<b>ПЦРО</b>	<b>НАХТ</b>	<b>p</b>
<b>высокий</b>	42 (84,0)	20 (90,9)	0,393
<b>умеренный</b>	4 (8,0)	2 (9,1)	
<b>общепопуляционный</b>	4 (8,0)	0	

В связи с обнаружением мутации категория риска наследственного РЯ у 9 пациентов (12,5%) была пересмотрена в пользу высокого риска. Ведение пациентов с BRCA-ассоциированный РЯ ВСЗ выполнялось совместно с врачом-химиотерапевтом и врачом-генетиком и отличалось от тактики при спорадических опухолях. На основании полученных данных в дальнейшем была подобрана терапия с учетом ожидаемой повышенной лекарственной чувствительности к препаратам платины и ингибиторам фермента PARP (олапариб).

На первом этапе исследования произведен поиск факторов, оказывающих статистически значимое влияние на клинические исходы (статистически значимо различимые показатели приведены в Таблице 3.45). На втором этапе методами бинарной логистической регрессии и линейной регрессии, применением кластерного анализа, анализа выживаемости и прочих был произведен анализ вероятности начала лечения с химиотерапии, вероятности выполнения операции с остаточной опухолью и вероятности рецидива заболевания после лечения. На основании полученных моделей также определены чувствительность, специфичность и прогностическая точность статистически значимых факторов.

### Первый этап лечения пациентов

Пациенты, первым этапом которым была проведена НАХТ, были старше, чем пациенты перед ПЦРО ( $59 \pm 12$  (95% ДИ = 54-65) и  $53 \pm 9$  (95% ДИ = 50-55) лет,  $p=0,018$ ), у них были отмечены более высокие значения СА 125 ( $751$  (95% ДИ = 548 – 2109) Ед/мл против  $270$  (95% ДИ = 116-669) Ед/мл,  $p < 0,001$ ) и более выраженный объем асцитической жидкости ( $300$  (95% ДИ = 125 – 750) мл против  $100$  (95% ДИ = 10-300) мл,  $p=0,036$ ). При сравнении остальных показателей (ИМТ ( $p=0,74$ ), соматическая отягощенность, оценка которой была произведена в баллах коморбидности индекса Чарльсон ( $p=0,281$ ), физический статус в соответствии с классификацией американского общества анестезиологов (ASA,  $p=0,163$ )) статистически значимых различий установлено не было (Таблица 3.45). Проведена оценка прогностической ценности статистически значимо различимых в группах факторов (возраст, СА 125, объем асцита). Для выяснения пороговых значений факторов для принятия решения о проведении пациентам на первом этапе хирургического или химиотерапевтического лечения был проведен ROC-анализ. Площадь под ROC-кривыми в зависимости от исходного уровня СА 125, от объема асцита и возраста составила:  $0,77$  ( $p < 0,001$ ),  $0,65$  ( $p=0,037$ ) и  $0,67$  ( $p=0,18$ ), соответственно (Рисунок 3.54).

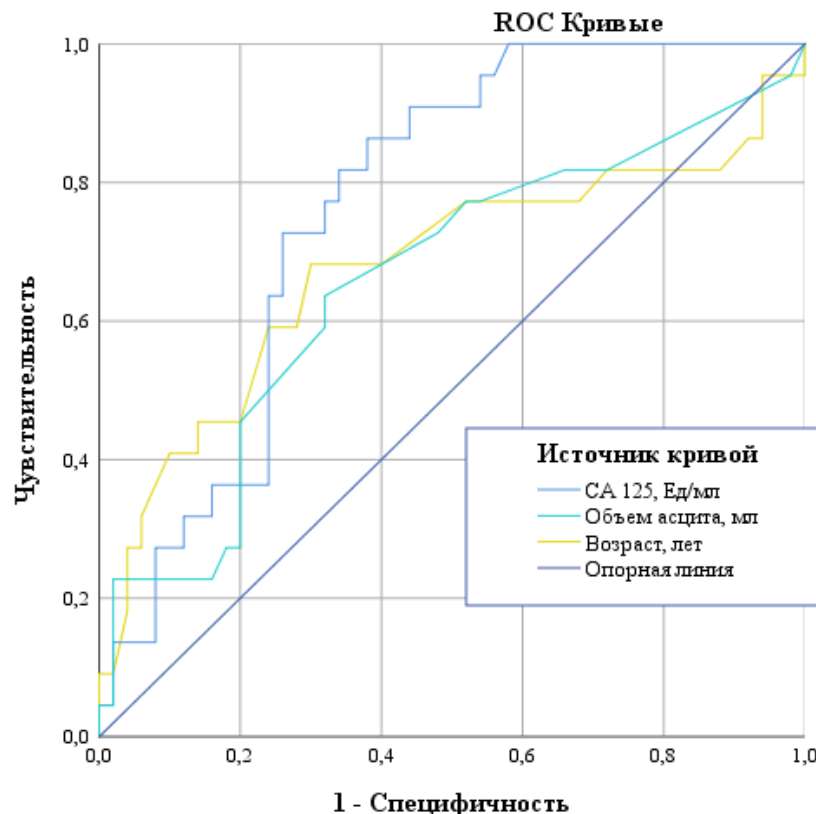


Рисунок 3.54 - Площади под ROC-кривыми, соответствующими прогнозируемой вероятности выполнения НАХТ на первом этапе лечения в зависимости от исходного уровня СА 125, объема асцита и возраста

Пороговые значения уровня СА 125, объема асцита и возраста пациента в точке cut-off составили:  $618,5$  Ед/мл (чувствительность –  $72,7\%$ , специфичность –  $74\%$ ),  $225$  мл (чувствительность –  $63,6\%$ , специфичность –  $68\%$ ) и  $57,5$  лет (чувствительность –  $68,2\%$ ,

специфичность – 70%), соответственно, - при превышении данных значений прогнозировалось выполнение на первом этапе НАХТ, при показателях ниже данных значений - ПЦРО.

ПНИ перед ПЦРО был ниже, чем у пациентов перед ИЦРО (30 (95% ДИ: 27 – 32 по сравнению 31 (95% ДИ: 30-36),  $p=0,0122$ , U–критерий Манна–Уитни). В связи с чем исследована возможность конкретизации показаний к проведению пациентам НАХТ в качестве первого этапа лечения на основании уточненных значений ПНИ. В результате двухэтапного кластерного анализа было показано, что все пациенты могут быть подразделены на 2 кластера (по 50% человек в каждом, силуэтная мера составила 0,7, хорошее качество кластеров,  $p < 0,001$ ), первый из которых образован теми, значения ПНИ у которых составляют 26,71 ( $Q_1-Q_3 = 23,5-28,63$ ), а второй - 34,86 ( $Q_1-Q_3 = 32,63-37,33$ ) (Рисунок 3.55).

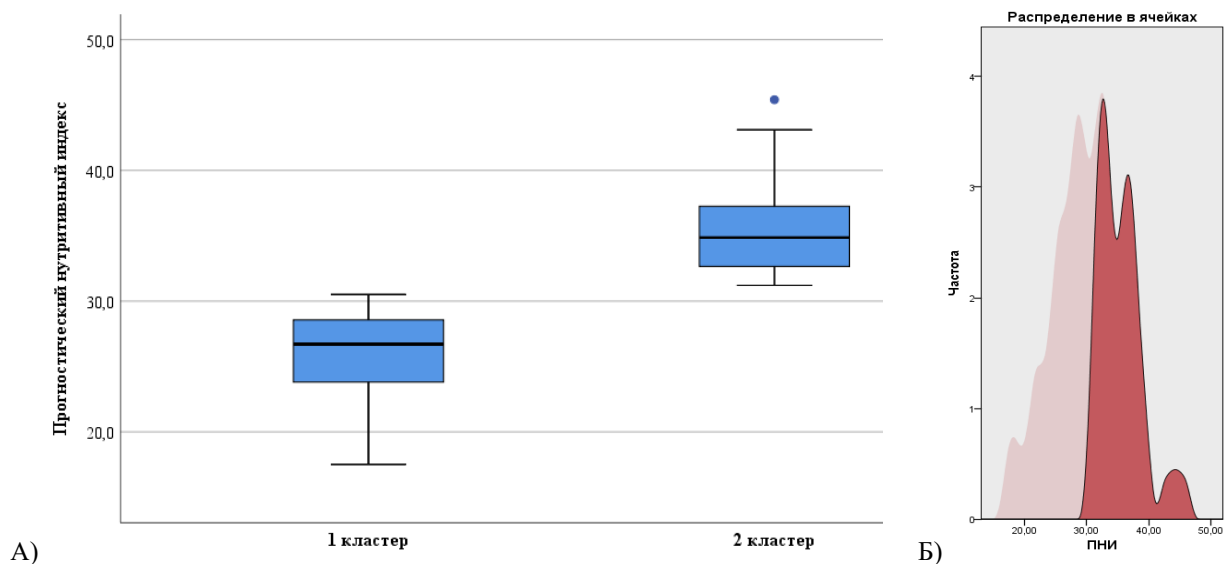


Рисунок 3.55 – А) Бокс-диаграммы ПНИ пациентов кластеров; Б) Распределение значений ПНИ в двух кластерах

Константа дискриминации, разделяющая исследуемых на две группы, определялась как значение функции, равноудаленное от центроидов, которые составили в группе ПЦРО – (-0,46), а в группе НАХТ – 1,05. Соответственно, константа дискриминации равна 0,29. При сравнении средних значений дискриминантной функции в обеих группах с помощью коэффициента  $\lambda$  Уилкса, были установлены статистически значимые различия ( $p < 0,001$ ). Принадлежность пациентов к группе высокой или низкой вероятности выполнения первым этапом химиотерапевтического лечения определялась исходя из рассчитанных значений прогностической дискриминантной функции: при значении функции более 0,29 пациент относился к группе высокой вероятности проведения на первом этапе НАХТ, при значении функции менее 0,29 – к группе высокой вероятности проведения на первом этапе хирургического лечения. Чувствительность модели составила 63,6%, специфичность – 80,0%.

Для оценки влияния полученных статистически значимых клинико-лабораторных факторов на выбор лечения, проводимого на первом этапе пациентам с распространенным РЯ, проведен дискриминантный анализ с шаговым отбором факторов, в результате которого была получена следующая прогностическая модель (3.2):

$$Y_{\text{НАХТ}} = -8,01 + 0,05 * X_{\text{Возраст}} + 0,15 * X_{\text{ПНИ}}, \quad (3.2)$$

где  $Y_{\text{НАХТ}}$  – дискриминантная функция, характеризующая вероятность выполнения на первом этапе лечения НАХТ (%),  $X_{\text{Возраст}}$  – возраст пациента (полных лет),  $X_{\text{ПНИ}}$  – нутритивный индекс (несмотря на статистическую значимость значения функции для СА 125 и объема асцита составили 0, в связи с чем не были учтены в данной модели).

Например, пациент Н., 49 лет, СА 125 = 1340 Ед/мл, объем асцита – 50 мл, ПНИ = 25,7. Значение функции составило -1,71, при котором прогнозируется выполнение первым этапом хирургического лечения, - пациенту Н. фактически первым этапом была проведена ЦРО.

### Время циторедуктивной операции и объем кровопотери

В результате сравнения групп пациентов, которым была выполнена полная и оптимальная первичная или интервальная ЦРО было показано, что длительность оперативного вмешательства, выполненного в полном и оптимальном объеме в результате ПЦРО превышает длительность ИЦРО:  $240 \pm 77$  (95% ДИ = 218-262) мин против  $195 \pm 62$  (95% ДИ = 168 – 223) мин,  $p=0,019$ ,  $t$ -критерий Стьюдента (Таблица 3.50). Остальные показатели в группах и подгруппах значимо не различались: время, затраченное на выполнение полной и оптимальной ПЦРО, было сопоставимо ( $p = 0,606$ ,  $t$ -критерий Стьюдента).

Таблица 3.50 - Periоперационные показатели в подгруппах

Тип ЦРО	Время операции, мин			p
	M ± SD	95% ДИ	n	
<b>первичная</b>	240 ± 77	218 – 262	50	0,019
<b>интервальная</b>	195 ± 62	168 – 223	22	
полная ПЦРО	237 ± 77	211 – 262	38	0,606
оптимальная ПЦРО	250 ± 77	201 – 299	12	
	Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	n	<b>p</b>
полная ИЦРО	205	169 – 259	14	0,108
оптимальная ИЦРО	155	140 – 169	8	
	Объем кровопотери, мл			p
	Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	n	
<b>первичная</b>	450	300 – 738	50	0,164
<b>интервальная</b>	300	200 – 500	22	
полная ПЦРО	500	225 – 738	38	0,891
оптимальная ПЦРО	400	300 – 650	12	
полная ИЦРО	300	200 – 500	14	0,836
оптимальная ИЦРО	300	238 – 538	8	

Интраоперационно 27 пациентам был установлен порт для внутрив брюшной химиотерапии (Таблица 3.45). ИЦРО при установке порта для внутрив брюшной химиотерапии длились дольше, чем операции, при которых данного этапа не было ( $237 \pm 51$  (95% ДИ: 197 – 276) мин по сравнению с  $167 \pm 54$  (95% ДИ: 134 – 199) мин,  $p=0,006$ ,  $t$ -критерий Стьюдента). Установка порта значимо не повлияла на длительность ПЦРО ( $p = 0,068$ ,  $t$ -критерий Стьюдента).

На длительность выполнения ПЦРО статистически значимое влияние оказали следующие факторы. ПЦРО с резекцией кишечника длились  $284 \pm 70$  (95% ДИ = 250-319) мин, без данного этапа -  $198 \pm 53$  (95% ДИ= 176-220) мин ( $p < 0,001$ ,  $F$ -критерий Фишера), при выполнении стриппинга и резекции купола (-ов) диафрагмы –  $280 \pm 73$  (95% ДИ=234-326) мин, без данного этапа -  $218 \pm 69$  (95% ДИ=191-245),  $p=0,044$ ,  $F$ -критерий Фишера), при необходимости выполнения дополнительных этапов операции в связи с распространением опухолевого процесса (желчный пузырь, селезенка, желудок, почка) время вмешательства достигало 365 ( $Q_1 - Q_3=341-370$ ) мин по сравнению с 222 ( $Q_1 - Q_3=180-276$ ) мин,  $p=0,004$ ,  $U$ -критерий Манна-Уитни). Увеличение ИПК прямо пропорционально взаимосвязано с увеличением длительности ПЦРО, - наблюдаемая описывается уравнением парной линейной регрессии (3.3):

$$Y_{\text{Время операции, мин}} = 3,54 \times X_{\text{ИПК, баллы}} + 206,8, \quad (3.3)$$

- при увеличении ИПК на 1 балл следует ожидать увеличение времени операции 3,54 мин ( $r_{xy} = 0,3$ , умеренная теснота связи по шкале Чеддока,  $p = 0,034$ ).

При увеличении ПНИ на каждую единицу следовало ожидать сокращения времени ПЦРО на 6,58 мин (слабая теснота по шкале Чеддока,  $p=0,05$ ), уравнение парной линейной регрессии (3.4):

$$Y_{\text{Время операции, мин}} = -6,582 \times X_{\text{ПНИ}} + 433,556, \quad p=-0,279, \quad (3.4)$$

ПЦРО, в процессе которых проводилось удаление метастатически пораженных участков кишечника, сопровождались увеличением объема кровопотери до 700 ( $Q_1 - Q_3=500-800$ ) мл по сравнению с ПЦРО, выполненными без данного этапа, - 300 ( $Q_1 - Q_3=200-400$ ) мл,  $p=0,033$ , критерий Краскела-Уоллиса. ПЦРО с выполнением вмешательств на диафрагме сопровождались кровопотерей 725 ( $Q_1 - Q_3=475-800$ ) мл, при отсутствии этапа – 300 ( $Q_1 - Q_3=200-500$ ) мл,  $p=0,03$ , критерий Краскела-Уоллиса. Перитонэктомия и вмешательства на органах брюшной полости (желчный пузырь, селезенка, желудок, почка) также сопровождались увеличением объема кровопотери: 700 ( $Q_1 - Q_3=400-875$ ) мл по сравнению с 300 ( $Q_1 - Q_3=200-500$ ) мл ( $p=0,013$ , критерий Краскела-Уоллиса) и 900 ( $Q_1 - Q_3=800 - 1150$ ) мл по сравнению с 400 ( $Q_1 - Q_3=200-562$ ) мл ( $p=0,001$ , критерий Манна-Уитни), соответственно. Предоперационное повышение СА 125 прямо пропорционально коррелировало с увеличением кровопотери ( $p = 0,335$ , умеренная теснота связи по шкале Чеддока,  $p=0,017$ ). Также с объемом кровопотери коррелировало

повышение ИПК ( $\rho = 0,379$ , умеренная теснота связи по шкале Чеддока,  $p = 0,007$ ), - уравнение парной линейной регрессии (3.5):

$$Y_{\text{Объем кровопотери, мл}} = 13,5 \times X_{\text{ИПК, баллы}} + 428,63, \quad (3.5)$$

- при увеличении ИПК на 1 балл следует ожидать увеличение объема кровопотери при ПЦРО на 13,5 мл.

В процессе ПЦРО наблюдалось увеличение объема кровопотери при снижении ПНИ, и, напротив, при увеличении ПНИ на 1 следовало ожидать уменьшение объема кровопотери на 28,12 мл (умеренная теснота связи по шкале Чеддока,  $p = 0,042$ ), уравнение парной линейной регрессии (3.6):

$$Y_{\text{Объем кровопотери}} = -28,124 \times X_{\text{ПНИ}} + 1475,67; \rho = -0,336. \quad (3.6)$$

Также при проведении корреляционного анализа было показано, что по мере увеличения продолжительности ПЦРО на 1 мин следовало ожидать увеличение кровопотери на 3,91 мл ( $\rho = 0,674$ , заметная теснота связи по шкале Чеддока,  $p < 0,001$ ). Уравнение парной линейной регрессии (3.7):

$$Y_{\text{Объем кровопотери, мл}} = 3,91 \times X_{\text{Время операции, мин}} - 382,72. \quad (3.7)$$

ПЦРО с установкой порта для интраперитонеальной ХТ тоже сопровождалось кровопотерей большего объема: 700 ( $Q_1 - Q_3 = 425-800$ ) мл по сравнению с 300 (200-500) мл,  $p = 0,004$ , *U-критерий Манна-Уитни*. Остальные показатели не оказали статистически значимого влияния на длительность и объем кровопотери в процессе ПЦРО.

На длительность выполнения ИЦРО оказало влияние проведение ЛАЭ, - данный этап продлил время вмешательства до  $252 \pm 53$  (95% ДИ = 186 – 318) мин по сравнению с  $179 \pm 56$  (95% ДИ = 150-207) мин у пациентов, которым ЛАЭ не проводилась ( $p = 0,017$ , *t-критерий Стьюдента*), причем длительность операции прямо пропорционально коррелировала с количеством удаленных ЛУ ( $\rho = 0,495$ , умеренная теснота связи по шкале Чеддока,  $p = 0,019$ ). Данный этап при ИЦРО также сопровождался значимо более выраженной кровопотерей, которая составила 500 мл ( $Q_1 - Q_3 = 500 - 700$ ) мл, при отсутствии этапа кровопотеря при ПЦРО составила 300 ( $Q_1 - Q_3 = 200-300$ ) мл,  $p = 0,024$ , *U-критерий Манна-Уитни*, что также коррелировало с количеством удаленных ЛУ ( $\rho = 0,486$ , умеренная теснота связи по шкале Чеддока,  $p = 0,022$ ).

При увеличении ПНИ на каждую единицу следовало ожидать сокращения времени ИЦРО на 6,79 мин ( $r_{xy} = -0,433$ , умеренная теснота по шкале Чеддока,  $p = 0,04$ ), уравнение парной линейной регрессии (3.8):

$$Y_{\text{Время операции, мин}} = -6,792 \times X_{\text{ПНИ}} + 418,984. \quad (3.8)$$

При выполнении вмешательств на диафрагме время операции составило 260 ( $Q_1 - Q_3 = 238-270$ ) мин, при отсутствии показаний к выполнению данного этапа - 160 ( $Q_1 - Q_3 = 140-180$ ) мин,  $p = 0,019$ , *критерий Краскела-Уоллиса*. ИЦРО с выполнением оперативного вмешательства

на кишечнике сопровождалось увеличением кровопотери до 650 (500-800) мл, что значительно превышало объем кровопотери при ИЦРО без данного этапа (300 (200-450) мл),  $p=0,02$ , критерий Краскела–Уоллиса. Также дополнительного времени требовала установка порта для интраперитонеальной химиотерапии ( $237 \pm 51$  (95% ДИ=197 – 276) мин по сравнению с  $167 \pm 54$  (95% ДИ=134 – 199) мин,  $p = 0,006$ ,  $t$ -критерий Стьюдента). При увеличении продолжительности проведения ИЦРО на 1 мин. следовало ожидать увеличения кровопотери на 1,948 мл ( $p=0,586$ , заметная теснота связи по шкале Чеддока,  $p = 0,004$ ). Уравнение парной линейной регрессии (3.9):

$$Y_{\text{Объем кровопотери, мл}} = 1,95 \times X_{\text{Время операции, мин}} + 14,71. \quad (3.9)$$

Остальные показатели не оказали статистически значимого влияния на длительность и объем кровопотери в процессе ИЦРО.

Таким образом, на длительность выполнения ПЦРО статистически значимое влияние оказали следующие факторы: увеличение ИПК ( $p = 0,034$ ), стриппинг и резекция диафрагмы ( $p=0,044$ ), вмешательства на кишечнике ( $p<0,001$ ) и других органах (желчный пузырь, селезенка, желудок, почка,  $p=0,004$ ), установка порта для внутрибрюшной химиотерапии ( $p=0,003$ ), снижение ПНИ ( $p=0,05$ ). На увеличение объема кровопотери при ПЦРО значимо влияли предоперационное повышение СА 125 ( $p=0,017$ ), снижение ПНИ ( $p=0,002$ ), повышение ИПК ( $p=0,007$ ), перитонэктомия ( $p=0,013$ ), выполнение хирургического этапа на кишечнике ( $p=0,033$ ), диафрагме ( $p=0,03$ ) и других органах (желчный пузырь, селезенка, желудок, почка,  $p=0,001$ ), а также установка порта для внутрибрюшной ХТ ( $p=0,004$ ). На длительность выполнения ИЦРО статистически значимое влияние оказали следующие факторы: вмешательства на диафрагме ( $p=0,019$ ) и установка порта для внутрибрюшной ХТ ( $p = 0,006$ ). Увеличение объема кровопотери после ИЦРО наблюдалось при вмешательствах на кишечнике ( $p=0,02$ ).

#### Данные цитологического и гистологического исследований

Данные цитологического исследования асцитической жидкости и гистологического исследования макропрепаратов приведены в Таблице 3.51.

Таблица 3.51 - Данные цитологического исследования асцитической жидкости и гистологического исследования макропрепаратов

Показатель	Категории	Первый этап лечения		p
		ПЦРО	НАХТ	
Опухолевые клетки в смывах (цитологическое исследование) ОШ=2,462, 95% ДИ: 0,784 – 7,732	клеток нет	21 (42,0)	5 (22,7)	0,117
	клетки опухоли	29 (58,0)	17 (77,3)	
Метастатическое поражение ЛУ	нет	33 (66,0)	19 (86,4)	0,076
	да	17 (34,0)	3 (13,6)	

Продолжение Таблицы 3.51

Показатель	Категории	Первый этап лечения		p
		ПЦРО	НАХТ	
Метастатическое поражение брюшины	перитонэктомия не проводилась	23 (46,0)	7 (31,8)	0,413
	брюшина не поражена	8 (16,0)	6 (27,3)	
	метастатически поражена	19 (38,0)	9 (40,9)	
Метастатическое поражение сальника	нет	26 (52,0)	7 (31,8)	0,113
	да	24 (48,0)	15 (68,2)	
Метастатическое поражение диафрагмы	гистологическое исследование не проводилось	27 (54,0)	13 (59,1)	0,729
	не поражена	3 (6,0)	1 (4,5)	
	поражена только брюшина	8 (16,0)	5 (22,7)	
	прорастание метастазами	12 (24,0)	3 (13,6)	
Группы метастатически пораженных ЛУ	ЛАЭ не проводилась или не поражены	34 (69,4)	19 (86,4)	0,452
	поясничные	4 (8,2)	2 (9,1)	
	тазовые	2 (4,1)	0	
	поясничные и тазовые	7 (14,3)	1 (4,5)	
	поясн., таз., паховые	2 (4,1)	0 (0,0)	

Как было сказано выше (Таблица 3.45), ЛАЭ в 3,99 раза чаще была выполнена во время ПЦРО, чем в процессе ИЦРО, при этом количество удаленных ЛУ значительно различалось (больше в процессе ПЦРО,  $p=0,015$ , *U-критерий Манна-Уитни*), а количество метастатически пораженных различалось не значительно ( $p=0,077$ , *U-критерий Манна-Уитни*).

Соответствие предположения о метастатическом поражении ЛУ на основании визуальной оценки ЛУ, удаленных в процессе ПЦРО, заключению гистологического исследования о наличии метастазов, приведено в Таблице 3.52 и на Рисунке 3.56. Выявлены значимые различия между группами удаленных и метастатически пораженных ЛУ ( $p < 0,001$ , *Хи-квадрат Пирсона*).

Таблица 3.52 – Соотношение групп ЛУ, удаленных при ПЦРО и метастатически пораженных

Группы удаленных ЛУ	Группы метастатически пораженных ЛУ					p
	ЛАЭ не проводилась или не поражены	поясничные	тазовые	поясничные и тазовые	поясн., таз., паховые	
ЛАЭ не проводилась	23 (67,6)	0	0	0	0	< 0,001
поясничные	3 (8,8)	4 (100,0)	0	0	0	
тазовые	2 (5,9)	0	2 (100,0)	0	0	
поясничные и тазовые	5 (14,7)	0	0	7 (100,0)	0	
поясн., таз., паховые	0	0	0	0	2 (100,0)	
надключичные	1 (2,9)	0	0	0	0	

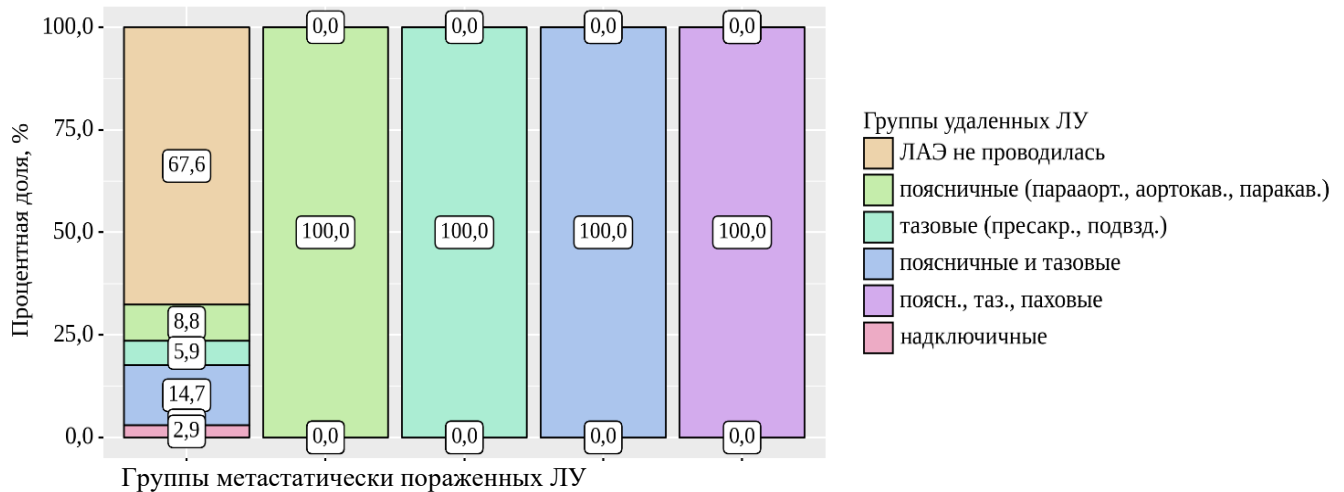


Рисунок 3.56 - Соответствие данных визуальной оценки метастатически пораженных ЛУ, удаленных при ПЦРО, данным гистологического исследования

Соответствие предположения о метастатическом поражении ЛУ на основании визуальной оценки ЛУ, удаленных в процессе ИЦРО, заключению гистологического исследования о наличии метастазов, приведено в Таблице 3.53 и на Рисунке 3.57. Значимых различий между группами удаленных и метастатически пораженных ЛУ установлено не было ( $p=0,659$ ).

Таблица 3.53 – Соотношение групп ЛУ, удаленных при ИЦРО и метастатически пораженных

Группы удаленных ЛУ	Группы метастатически пораженных ЛУ			p
	ЛАЭ не проводилась или не поражены	поясничные	поясничные и тазовые	
ЛАЭ не проводилась	17 (89,5)	0	0	$0,004^1$ $p$ ЛУ не поражены – поясничные, поясничные и тазовые = $0,659$ $p$ ЛАЭ не проводилась или не поражены – поясничные = $0,026$ $p$ ЛАЭ не проводилась или не поражены – поясничные и тазовые = $0,026$
поясничные	1 (5,3)	1 (50,0)	0	
поясничные и тазовые	1 (5,3)	1 (50,0)	1 (100,0)	

Примечание: <sup>1</sup> - Хи-квадрат Пирсона

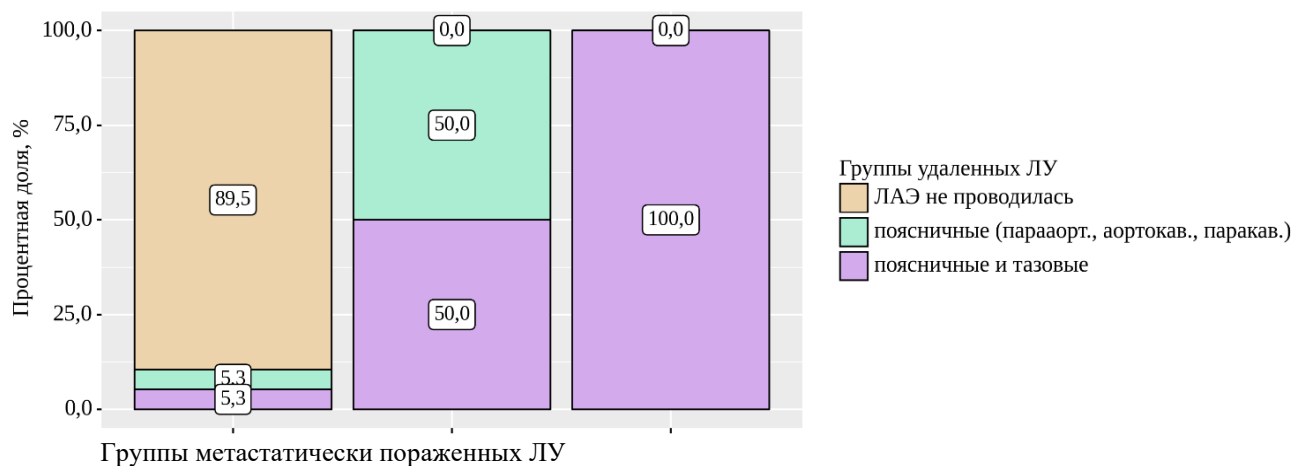


Рисунок 3.57 - Соответствие данных визуальной оценки метастатически пораженных ЛУ, удаленных при ИЦРО, данным гистологического исследования

### Объем циторедуктивной операции

Был проведен анализ различий клинических факторов (возраст и ИМТ пациента, наличие мутации в генах BRCA, уровень СА 125, HE4, индекс Чарльсон, физический статус по классификации ASA, ПНИ, перенесенные ранее операции по неонкологическим показаниям, наличие спаечного процесса, объем асцита и цитологически подтвержденное наличие в нем опухолевых клеток, а также гистологически верифицированное метастатическое поражение брюшины, сальника, ЛУ, диафрагмы, кишечника и других органов) в 4 подгруппах.

Перед ПЦРО ИПК составил 8 ( $Q_1 - Q_3 = 5-14$ ) баллов, ИПК не оказал статистически значимого влияния на выполнение полной (8 ( $Q_1 - Q_3 = 4-14$ ) баллов) и оптимальной (11 ( $Q_1 - Q_3 = 6-16$ ) баллов) операции ( $p=0,245$ , *U-критерий Манна-Уитни*).

Был проведен анализ различий клинических факторов в четырех подгруппах: более выраженное исходное повышение уровня СА 125 было сопряжено с выполнением ИЦРО без остаточной опухоли (1214 ( $Q_1 - Q_3 = 751 - 2588$ ) Ед/мл против 488 ( $Q_1 - Q_3 = 331 - 751$ ) Ед/мл,  $p=0,02$ , *U-критерий Манна-Уитни*). В процессе дальнейшего анализа значимости СА 125 для прогнозирования достижения полной ИЦРО методами бинарной логистической регрессии ( $p=0,21$ ) и линейной регрессии ( $p=0,104$ ) не было установлено.

ИПК у пациентов после НАХТ составил 9 баллов (95% ДИ = 7 – 14) баллов, ИПК не оказал статистически значимого влияния на выполнение полной ( $11 \pm 6$  ( $Q_1 - Q_3 = 4-14$ ) баллов) или оптимальной ( $12 \pm 7$  (95% ДИ = 5-18) баллов) операции ( $p=0,758$ , *t-критерий Стьюдента*). Остальные показатели в группах и подгруппах также значимо не различались.

На основании двухэтапного кластерного анализа было показано, что все пациенты могут быть подразделены на 2 кластера (по 50% человек в каждом, силуэтная мера составила 0,7, хорошее качество кластеров,  $p < 0,001$ ), первый из которых образован теми пациентами, значения ПНИ у которых составляют 26,71 ( $Q_1-Q_3 = 23,5-28,63$ ), а второй - 34,86 ( $Q_1-Q_3 = 32,63-37,33$ ) (Рисунок 3.55). При дальнейшем проведении анализа при помощи метода ROC-кривых было показано, что выполнение полной ПЦРО можно ожидать у пациентов с значениями ПНИ 27,86 и выше, при значении ниже 27,86 – выполнение ПЦРО с остаточной опухолью (AUC = 94,3, чувствительность = 80%, специфичность = 91,7%,  $p < 0,001$ , Рисунок 3.58).

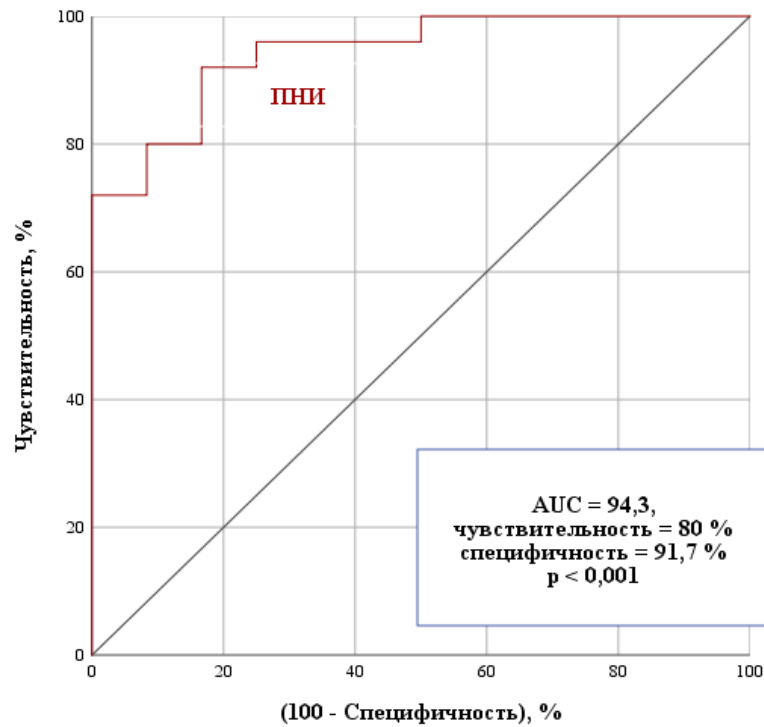


Рисунок 3.58 - ROC-кривая прогнозируемой вероятности выполнения ПЦРО без остаточной опухоли

Статистической значимости ПНИ для прогнозирования результата ИЦРО установлено не было ( $p=0,079$ ).

#### Осложнения и длительность пребывания в стационаре в послеоперационном периоде

В послеоперационном периоде у 4 пациентов после ПЦРО наблюдались осложнения, потребовавшие повторного хирургического вмешательства (Таблица 3.51). Развитие послеоперационных осложнений привело к удлинению времени пребывания в стационаре ( $11 \pm 3$  (95% ДИ=10-12) койко-дней при отсутствии осложнений) в послеоперационном периоде и составило  $22 \pm 5$  (95% ДИ=15-29) койко-дней (19 койко-дней после кровотечения, 20 (19 и 22) койко-дней после кишечной непроходимости у двоих пациентов и 28 койко-дней в связи с несостоятельностью анастомоза,  $p < 0,001$ ,  $t$ -критерий Стьюдента). Следует отметить, что у всех пациентов интраоперационно был отмечен выраженный спаечный процесс и выполнена ЛАЭ.

Таблица 3.54 - Частота возникновения осложнений, потребовавших повторного хирургического вмешательства, и длительность пребывания в стационаре

Показатель	Категории	Первый этап лечения		p
		ПЦРО	НАХТ	
Осложнения	нет	46 (92,0)	22 (100,0)	0,306
	да	4 (8,0)	0	
Осложнения, потребовавшие повторного хирургического вмешательства	нет	46 (92,0)	22 (100,0)	0,601
	кровотечение	1 (2,0)	0	
	несостоятельность анастомоза	1 (2,0)	0	
	кишечная непроходимость (или эвентерация)	2 (4,0)	0	

Продолжение Таблицы 3.54

Показатель	Категории	Me	Q <sub>1</sub> – Q <sub>3</sub>	p
Койко-дни в стационаре после операции	ПЦРО	11	9 – 13	0,76
	НАХТ	11	8 – 13	

При увеличении ПНИ на 1 следует ожидать сокращение пребывания в стационаре после ИЦРО на 0,52 койко-дня, уравнение парной линейной регрессии ( $p=0,045$ , умеренная теснота связи по шкале Чеддока,  $p=0,05$ ):

$$Y_{\text{Койко-дни}} = -0,521 \times X_{\text{ПНИ}} + 28,709. \quad (3.10)$$

В связи с явлениями токсичности (гематологическая токсичность в виде анемии, нейтропении и тромбоцитопении, нефротоксичности или выраженных гастроинтестинальных проявлений в виде рвоты, диареи) 11 пациентов получили ХТ в редуцированной дозе (редуцирование дозы выполнено за счет изменения дозы карбоплатина по формуле Калверта, а именно перехода с AUC 6 на AUC 5). 8 (5,76%) пациентам был назначен олапариб и 4 (2,88%) бевацизумаб до прогрессирования или непереносимости данного лечения.

Таким образом, было показано, что выполнение полной ЦРО не сопровождается увеличением времени операции и объема кровопотери, повышением частоты возникновения осложнений, потребовавших повторного хирургического вмешательства, и увеличением длительности пребывания в стационаре после оперативного вмешательства.

### Выживаемость без прогрессирования

На втором этапе проведен анализ выживаемости и предикторов ее длительности. Методом парной и множественной линейной регрессии (с отбором переменных посредством исключения незначимых факторов при помощи критерия Вальда) произведен анализ влияния факторов на длительность выживаемости без прогрессирования. Анализ выживаемости без прогрессирования после двух вариантов лечения и после лечения различного объема проведен при помощи метода Каплана-Мейера (с применением лог-ранк критерия Мантеля-Кокса, получены медианы ВБП) и метода регрессии Кокса (определен риск рецидива заболевания после различных вариантов лечения в зависимости от количественных и категориальных факторов).

Медиана наблюдения за пациентами после первичной и интервальной циторедуктивных операций составила 31 мес. (39 мес. после ПЦРО + ХТ, 27 мес. после НАХТ + ИЦРО).

После окончания комбинированного лечения рецидив заболевания был отмечен у 50 (65,79%) пациентов: у 32 (59,26%) пациентов после ПЦРО, у 18 (75%) – после НАХТ ( $p=0,181$ , ОШ = 2,06; 95% ДИ: 0,7 – 6,02). У 11 из 78 пациентов отмечена резистентность к проводимой платиносодержащей химиотерапии (у 3 после полной ПЦРО, у 2 – после оптимальной ПЦРО, у

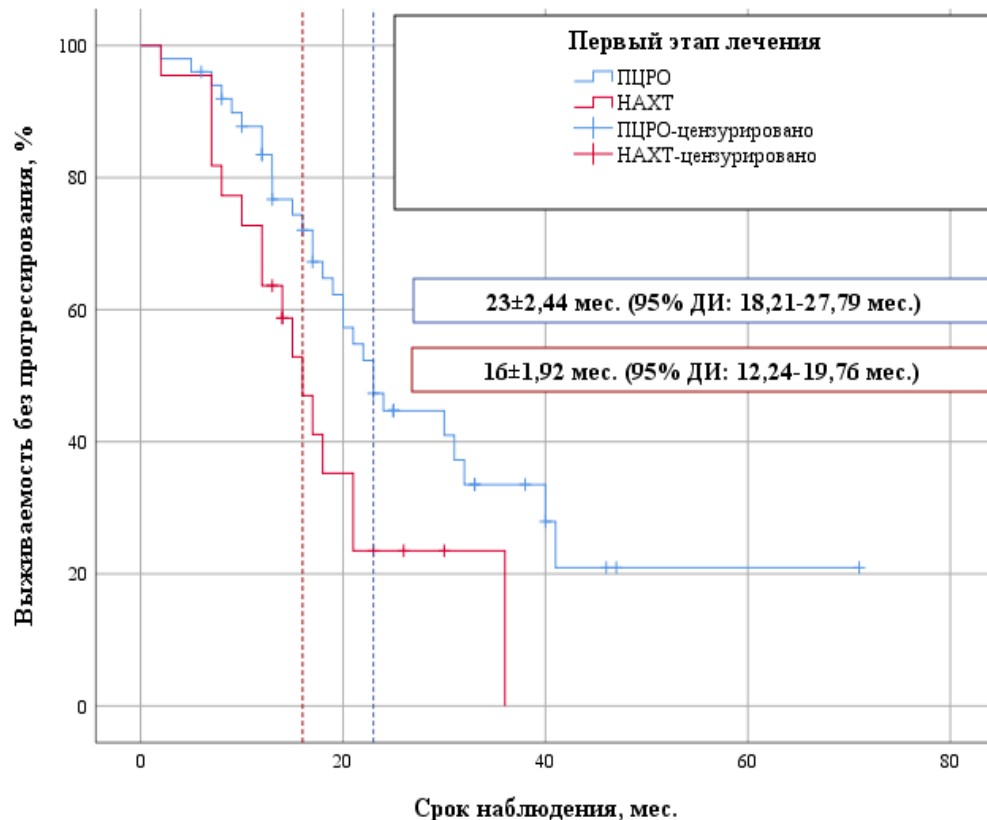
3 – после полной ИЦРО, у 1 – после оптимальной ИЦРО, у 2 – после неоптимальной ИЦРО,  $p = 0,441$ , *точный критерий Фишера*).

Риск наступления рецидива заболевания оценивался при помощи таблиц дожития с полугодовыми интервалами (Таблица 3.55).

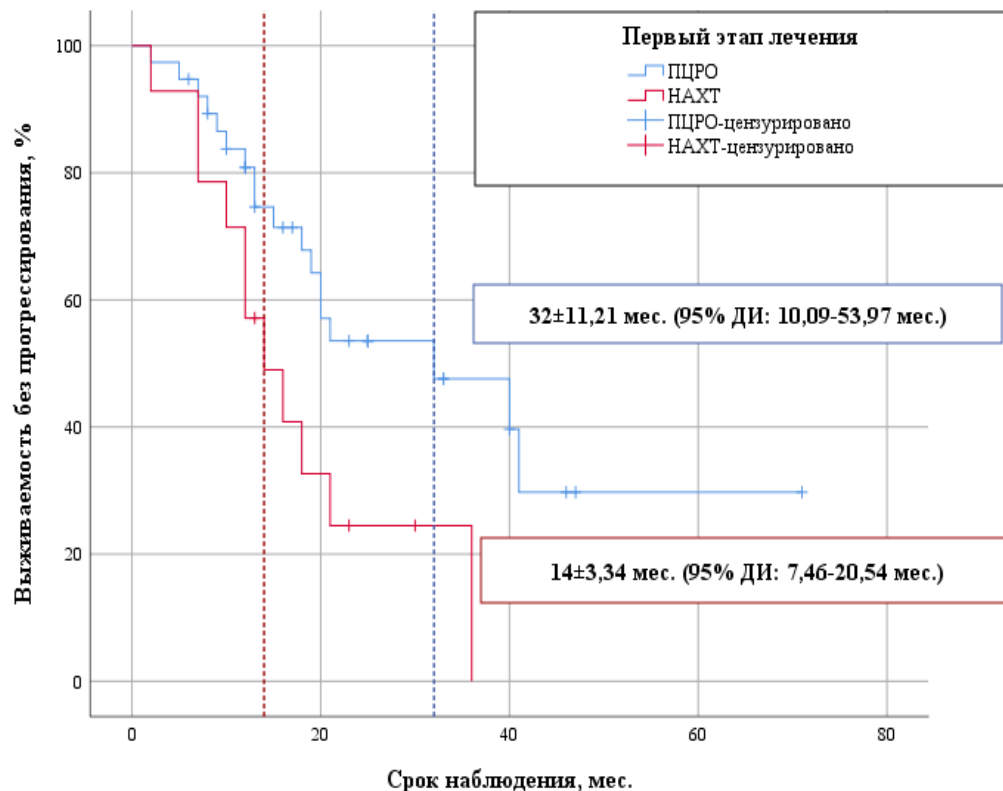
Таблица 3.55 - Сроки наступления рецидива в группах в зависимости от первого этапа лечения и наличия остаточной опухоли

Период наблюдения, мес.	НАХТ		ПЦРО	
	полная ЦРО	оптимальная ЦРО	полная ЦРО	оптимальная ЦРО
6	21	25	8	0
12	29	25	21	8
18	54	25	31	25
24	63	46	40	42
30	74	73	40	42
36	74	100	46	69
42	100	-	61	90
48	-	-	90	90

Зависимость сроков наступления рецидива от первого этапа лечения была оценена при помощи лог-ранк критерия Манталя-Кокса и была статистически значимой ( $p=0,026$ ). Анализ показал, что медианы сроков наступления рецидивов после первичной и интервальной циторедуктивных операций, выполненных в объеме полной и оптимальной ЦРО, составили  $23 \pm 2,44$  мес. (95% ДИ: 18,21-27,79 мес.) и  $16 \pm 1,92$  мес. (95% ДИ: 12,24-19,76 мес.), соответственно (Рисунок 3.59).



А)



Б)

Рисунок 3.59 - Сроки наступления рецидива после лечения в зависимости от первого этапа лечения и объема остаточной опухоли. А. Безрецидивная выживаемость при первичных и интервальных циторедуктивных вмешательствах, выполненных в полном и оптимальном объеме. Б. Безрецидивная выживаемость при первичных и интервальных циторедуктивных вмешательствах, выполненных без остаточной опухоли

Проведен анализ длительности ВБП пациентов в зависимости от первого этапа проведенного лечения (лог-ранк критерий Манталя-Кокса ВБП после первичной и интервальной ЦРО:  $p=0,006$ ). Медианы сроков наступления рецидивов после ПЦРО и после НАХТ при операции, выполненной без остаточной опухоли (полная ЦРО), составили  $32\pm 11,21$  мес. (95% ДИ: 10,09-53,97 мес.) и  $14\pm 3,34$  мес. (95% ДИ: 7,46-20,54 мес.), соответственно (Рисунок 3.59 Б). Медианы сроков наступления рецидивов после ПЦРО и после НАХТ при операции, выполненной с остаточной опухолью размерами до 1 см (оптимальная ЦРО), составили  $22\pm 3,46$  (95% ДИ: 15,21-28,79) мес. и  $17\pm 2,16$  (95% ДИ: 12,77-21,23) мес., соответственно. Медианы сроков наступления рецидивов после ПЦРО и после НАХТ при операции, выполненной с остаточной опухолью размерами более 1 см (неоптимальная ЦРО), составили  $14\pm 7$  (95% ДИ: 0,28-27,72) мес. и 7 мес. (2 пациента), соответственно.

Проведен анализ длительности ВБП пациентов после ПЦРО и ИЦРО в зависимости от полноты циторедукции. Медианы ВБП после полной, оптимальной и неоптимальной ПЦРО составили  $32\pm 11,21$  (95% ДИ: 10,09-53,97) мес.,  $22\pm 3,46$  (95% ДИ: 15,21-28,79) мес. и  $12\pm 2$  (95% ДИ: 8,08-15,92) мес., соответственно (лог-ранк критерия Манталя-Кокса:  $p=0,03$ , Рисунок 3.60).

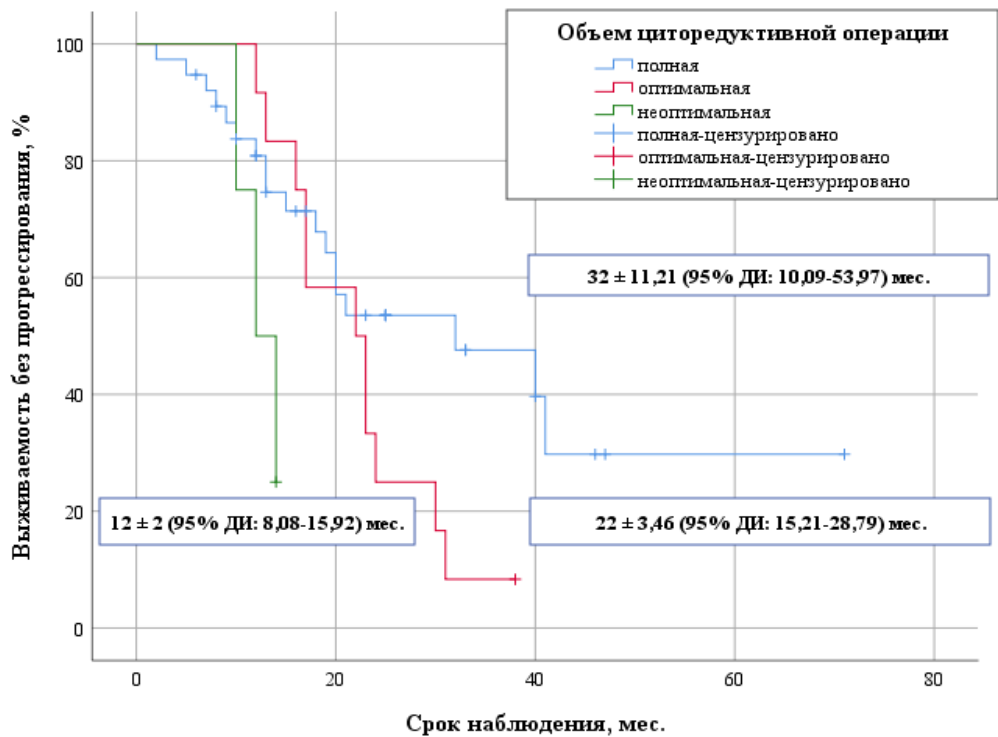


Рисунок 3.60 - Сроки наступления рецидива после лечения в зависимости от первого этапа лечения и объема остаточной опухоли: безрецидивная выживаемость после полной, оптимальной и неоптимальной ПЦРО

Медианы ВБП после полной, оптимальной и неоптимальной ИЦРО были также сопоставимы:  $14 \pm 3,34$  (95% ДИ: 7,46-20,54) мес.,  $17 \pm 2,16$  (95% ДИ: 12,77-21,23) мес. и 7 мес., соответственно (лог-ранк критерия Мантеля-Кокса:  $p=0,139$ , Рисунок 3.61).



Рисунок 3.61 - Сроки наступления рецидива после лечения в зависимости от первого этапа лечения и объема остаточной опухоли: безрецидивная выживаемость после полной, оптимальной и неоптимальной ПЦРО

Помимо изученного влияния наличия остаточной опухоли был проведен анализ взаимосвязи клинико-лабораторных показателей (ИПК, возраст и ИМТ пациента, наличие мутации в генах BRCA, уровень СА 125, HE4, индекс Charlson, физический статус по классификации ASA, ПНИ, перенесенные ранее операции по неонкологическим показаниям, наличие спаечного процесса, объем асцита и цитологически подтвержденное наличие в нем опухолевых клеток, а также гистологически верифицированное метастатическое поражение брюшины, сальника, лимфатических узлов, диафрагмы, кишечника и других органов) на частоту рецидива в 4 подгруппах (распределение в соответствии с данными Таблицы 3.44). При выполнении ПЦРО или ИЦРО без остаточной опухоли или с опухолью размерами до 1 см включительно частота наступления рецидива не зависела от перечисленных факторов.

Проведен анализ значимости взаимосвязи факторов (возраст, ИМТ, мутация в генах BRCA, уровень СА 125 и HE4, ПНИ, индекс Чарльсон, физический статус по классификации ASA, ранее перенесенные оперативные вмешательства, наличие спаечного процесса, ИПК, объем асцита и наличие в нем опухолевых клеток, гистологически верифицированное метастатическое поражение ЛУ, брюшины, диафрагмы, сальника, кишечника и др. органов, проведение интраперитонеальной химиотерапии, прием бевацизумаба или олапариба) и ВБП. У пациентов, которым первым этапом была выполнена ЦРО, наблюдалась более длительная ВБП при наличии мутации в генах BRCA ( $30 \pm 19$  (95% ДИ = 16 – 43) мес. против  $20 \pm 11$  (95% ДИ = 16 – 23) мес.,  $p = 0,03$ , *t-критерий Стьюдента*). Гистологически верифицированное метастатическое поражение брюшины после НАХТ сопряжено с сокращением ВБП по сравнению с пациентами, у которых канцероматоза брюшины после ИЦРО отмечено не было ( $11 \pm 4$  (95% ДИ = 9 – 14) мес. против  $24 \pm 8$  (95% ДИ = 17 – 31) мес.,  $p = 0,002$ , *F-критерий Фишера*). Также было показано, что прием олапариба сопряжен с увеличением ВБП пациентов после НАХТ+ИЦРО:  $26 \pm 12$  (95% ДИ = 5 – 57) мес. против  $14 \pm 6$  (95% ДИ = 11 – 17) мес. у пациентов, которые его не принимали ( $p = 0,013$ , *t-критерий Стьюдента*).

Далее анализ проведен в 4 подгруппах. У пациентов, которым была выполнена полная ПЦРО, наличие мутации в генах BRCA было сопряжено с увеличением ВБП до  $31 \pm 20$  (95% ДИ = 16-46) мес. по сравнению с пациентами, у которых мутации выявлено не было ( $19 \pm 11$  (95% ДИ = 14-23) мес.),  $p = 0,022$ , *t-критерий Стьюдента*. Гистологически верифицированное поражение сальника у пациентов данной подгруппы было сопряжено с укорочением ВБП после полной ПЦРО и составило  $16 \pm 9$  (95% ДИ = 12 – 21) мес. по сравнению с пациентами, у которых метастазов в сальнике не было ( $27 \pm 17$  (95% ДИ = 18 – 35) мес.),  $p = 0,03$ , *t-критерий Уэлча*. Аналогичная взаимосвязь наблюдалась между метастатическим поражением кишечника и ВБП после полной ПЦРО: при отсутствии метастатического поражения кишечника ВБП составила 25 ( $Q_1 - Q_3 = 20-33$ ) мес, при наличии метастазов – 13 ( $Q_1 - Q_3 = 10-18$ ) мес.,  $p = 0,042$ , *критерий*

*Краскела–Уоллиса*. Статистически значимой взаимосвязи изучаемых факторов и ВБП после ПЦРО, выполненной в оптимальном объеме, установлено не было.

При анализе значимости взаимосвязи факторов в подгруппе пациентов, которым была выполнена НАХТ с последующей ИЦРО без остаточной опухоли, была показана значимая взаимосвязь между поражением брюшины и сокращением ВБП ( $12 \pm 4$  (95% ДИ = 7-17) мес. по сравнению с  $25 \pm 8$  (95% ДИ = 15-35) мес. при отсутствии метастатического поражения брюшины,  $p=0,013$ , *F-критерий Фишера*). Прием олапариба также был сопряжен с более длительной выживаемостью без признаков прогрессирования заболевания:  $26 \pm 12$  (95% ДИ = 5 – 57) мес. против  $13 \pm 6$  (95% ДИ = 9 – 17) мес. ( $p = 0,024$ , *t-критерий Стьюдента*). В подгруппе пациентов, которым была выполнена оптимальная ИЦРО, значимым оказалось влияние на ВБП метастатического поражения брюшины:  $12 \pm 4$  (95% ДИ = 7 – 17) мес. против  $25 \pm 8$  (95% ДИ = 15 – 35) мес. при отсутствии канцероматоза,  $p = 0,013$ , *F-критерий Фишера*. Прием олапариба после оптимальной ИЦРО был также сопряжен с увеличением ВБП:  $26 \pm 12$  (95% ДИ = 5 – 57) мес. против  $13 \pm 6$  (95% ДИ = 9 – 17) мес. ( $p = 0,024$ , *t-критерий Стьюдента*).

На основании полученных статистически значимых данных методом регрессии Кокса проведена оценка комплексного влияния отобранных факторов на риск рецидива заболевания в 3 подгруппах. У пациентов после полной ПЦРО риск рецидива был повышен при метастатическом поражении сальника (учет метастатического поражения кишечника и мутации в генах BRCA снижали точность модели, в связи с чем факторы были исключены при пошаговом отборе), - была получена следующая статистически значимая модель пропорциональных рисков ( $p=0,042$ ):

$$h_i(t) = h_0(t) \times \exp(0,865 \times X_1), \quad (3.11)$$

где  $h_i(t)$  – прогнозируемый риск рецидива для пациента после полной ПЦРО (%);  $h_0(t)$  – базовый риск рецидива за определенный временной период  $t$  (в %);  $X_1$  – наличие метастазов в сальнике (0 – нет, 1 - да). Изменение рисков рецидива в зависимости от наличия метастазов: ОР=2,37 (ОШ=1,01-5,58), - при выявлении метастатического поражения сальника отмечается статистически значимое увеличение риска рецидива в 2,37 раз ( $p=0,047$ ).

У пациентов после полной ИЦРО риск рецидива был повышен при метастатическом поражении брюшины (учет приема олапариба снижал точность модели, фактор был исключен при пошаговом отборе), - была получена следующая статистически значимая модель пропорциональных рисков ( $p=0,034$ ):

$$h_i(t) = h_0(t) \times \exp(0,798 \times X_1), \quad (3.12)$$

где  $h_i(t)$  – прогнозируемый риск рецидива пациента после полной ИЦРО (%);  $h_0(t)$  – базовый риск развития рецидива за определенный временной период  $t$  (%);  $X_1$  – наличие метастатического поражения брюшины (0 – нет, 1 - да). Изменение рисков рецидива в

зависимости от наличия метастазов: ОР=2,22 (ОШ=1,02-4,86), - при выявлении метастатического поражения брюшины отмечается статистически значимое увеличение риска рецидива в 2,22 раз ( $p=0,046$ ).

При анализе влияния факторов (метастатическое поражение брюшины, прием олапариба) на риск рецидива после оптимальной ИЦРО значимого риска получено не было ( $p=0,223$ ).

Таким образом, на увеличение длительности ВВП статистически значимое влияние оказали следующие факторы: наличие мутации в генах BRCA, отсутствие метастатического поражения сальника и кишечника у пациентов после полной ПЦРО, отсутствие метастатического поражения брюшины и прием олапариба у пациентов после полной и оптимальной ИЦРО. Статистически значимой взаимосвязи изучаемых факторов и ВВП после ПЦРО, выполненной в оптимальном объеме, установлено не было.

### 3.3.2 Выявление системного изменения липидного профиля после нерадикальных операций по поводу серозных новообразований яичников

В системном кровотоке могут быть обнаружены как циркулирующие опухолевые клетки, так и молекулярные субстраты, ассоциированные с метаболическими потребностями опухолевой ткани, в том числе липиды, в связи с чем перспективным является изучение как диагностической, так и маркерной ценности изменения липидов после различных этапов лечения как отображения изменения биологической активности опухолевого процесса. Была выдвинута гипотеза об изменении липидного профиля сыворотки крови после проведенного оперативного вмешательства и манипуляций с опухолью.

Чтобы исследовать наличие изменений липидного профиля сыворотки крови после различных этапов лечения при помощи метода ВЭЖХ-МС были проанализированы 46 образцов сыворотки крови пациентов до проведения хирургического или химиотерапевтического лечения: 36 пациентов с серозным РЯ ВСЗ, 10 пациентов с серозной ПОЯ, 6 из которых были прооперированы ранее в другом учреждении в нерадикальном объеме и 4 получили первичное хирургическое лечение (Рисунок 3.62).

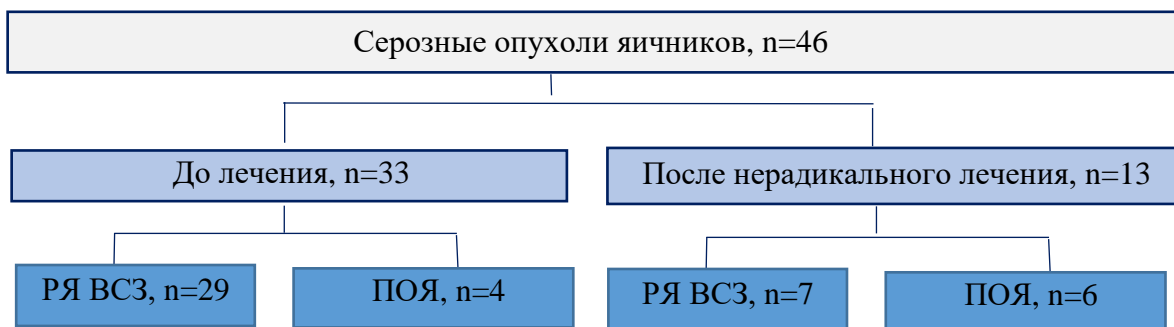


Рисунок 3.62 - Дизайн исследования

Первую группу составили пациенты, у которых ранее не было оперативных вмешательств на органах малого таза (первичная диагностика, n=33), вторую группы – пациенты после нерадикального объема хирургического лечения (мониторинг, n=13). Пациентам второй группы резекция яичника была выполнена ранее при отсутствии предоперационной верификации злокачественного процесса, при несогласии на удаление единственного яичника в связи с устойчивым желанием женщины реализовать репродуктивную функцию и т.д. Данные пациенты обратились для выполнения повторного оперативного вмешательства.

Было показано, что после нерадикального лечения в крови пациентов с РЯ ВСЗ изменено содержание Plasmeyl-PE(P-18:1/20:4), PC(1660\_18:1) и TG (16:1\_18:0\_22:4). Статистически значимого системного изменения липидного профиля после нерадикальных операций не обнаружено (Рисунки 3.63, 3.64).

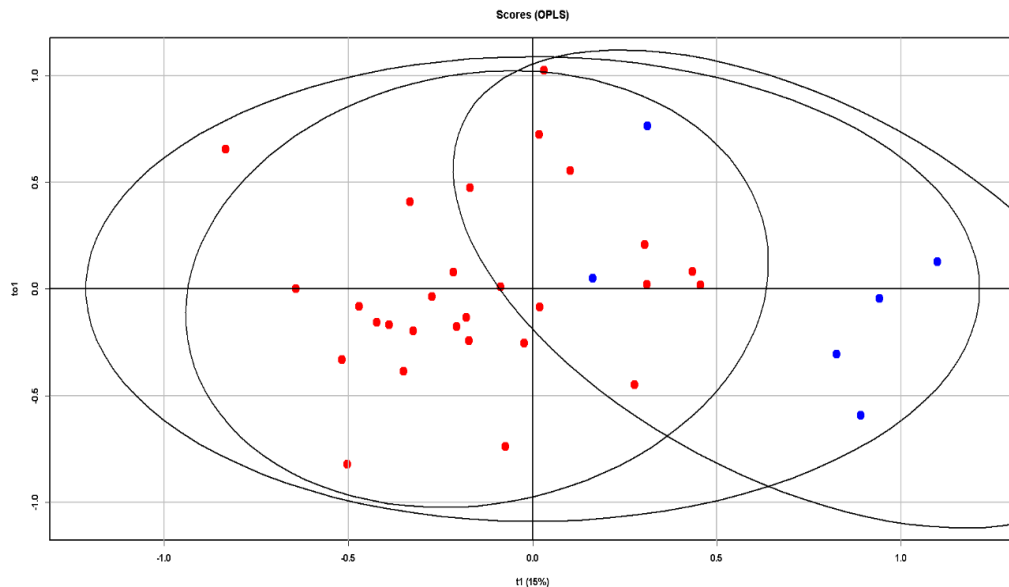


Рисунок 3.63 - График счетов, построенный по результатам OPLS-анализа масс-спектрометрических данных (РПИ), полученных при анализе образцов сыворотки крови пациентов с РЯ ВСЗ после нерадикальной операции (n=7 человек; 6 синих точек в поле зрения) и до начала лечения (n=29 человек; красные точки)

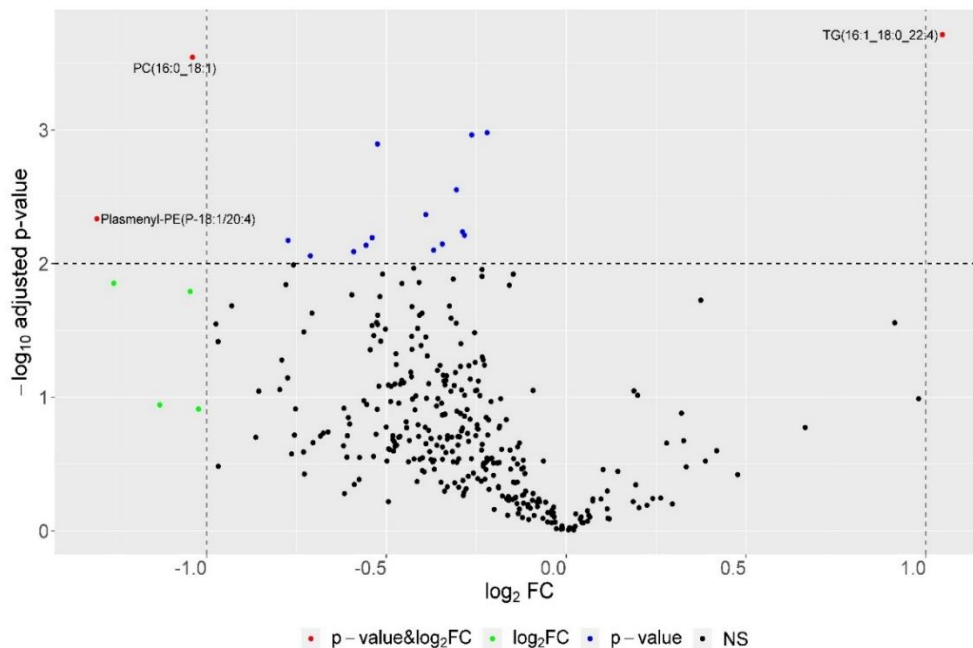


Рисунок 3.64 - Вулканная диаграмма (график рассеяния для большого массива данных), построенная по результатам сравнения уровней липидов образцах групп с III-IV стадиями РЯ до ЦРО и после нерадикальной операции (интерпретация в соответствии с Рисунками 3.26, 3.36)

Получены данные об отсутствии статистически значимых изменений липидного профиля сыворотки крови после оперативного вмешательства в течение изученного срока (в среднем, 2-6 мес.), в течение которого опухолевые клетки успевают достичь системного кровотока. Это свидетельствует о соответствии предоперационного липидного профиля наличию заболевания и перспективности использования метода в качестве неинвазивной диагностики новообразований яичников различных гистотипов (РЯ ВСЗ, ПОЯ).

### 3.3.3 Определение липидного профиля крови после предоперационной химиотерапии

#### Изменение липидного профиля сыворотки крови пациентов после химиотерапевтического лечения рака яичников высокой степени злокачественности

В исследование был включен 31 пациент с распространенными стадиями РЯ ВСЗ. Группу диагностики составили пациенты, у которых ранее не было оперативных вмешательств на органах малого таза (n=24), группу мониторинга – пациенты после трех - четырех курсов неoadъювантной химиотерапии (n=7) по схеме «паклитаксел + карбоплатин».

После проведения предоперационной платиносодержащей химиотерапии выявлены статистически значимые изменения липидного профиля сыворотки крови, что указывает на системные лекарственные и патоморфоз-ассоциированные изменения под воздействием химиотерапевтических препаратов (Рисунки 3.65, 3.66).

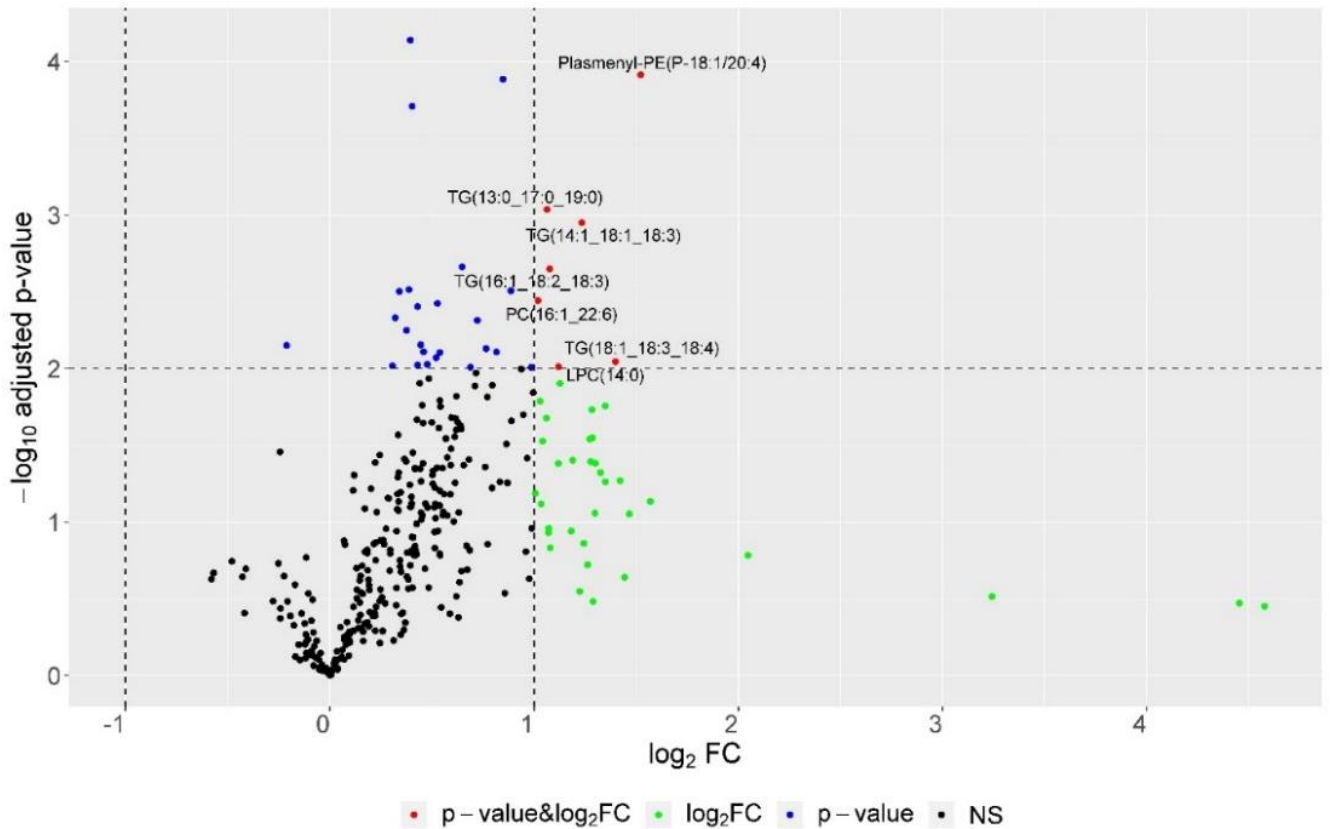


Рисунок 3.65 - Вулканная диаграмма (график рассеяния для большого массива данных), построенная по результатам сравнения уровней липидов образцах групп после химиотерапии и до начала лечения (интерпретация в соответствии с Рисунками 3.26, 3.36)

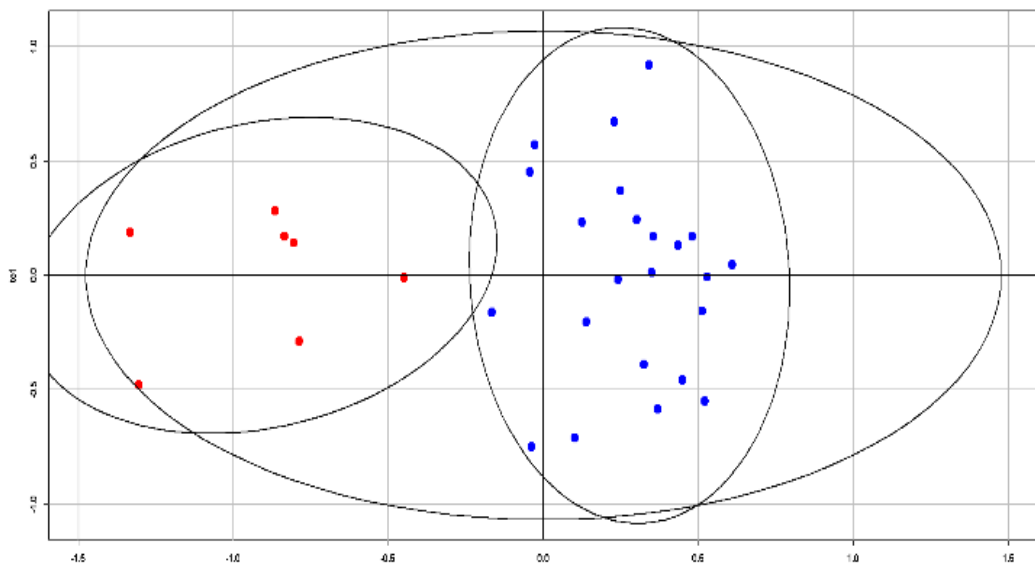


Рисунок 3.66 - График счетов, построенный по результатам OPLS-анализа масс-спектрометрических данных, полученных для образцов крови пациентов после НАХТ (n=7 человек; красные точки) и перед первичным оперативным вмешательством» (n=24 человек; синие точки): выявлены статистически значимые изменения липидного профиля сыворотки крови (РПИ,  $R_2 > 0,5$ ,  $Q_2 = 0,4$ )

## Изменение липидного профиля плазмы крови пациентов после химиотерапевтического лечения рака яичников высокой степени злокачественности

ВЭЖХ-МС анализ липидного профиля плазмы крови пригоден не только для диагностики заболеваний [44], но и позволяет осуществлять мониторинг эффективности проводимого лечения [239], а также на предоперационном этапе прогнозировать риски рецидива заболевания.

Для оценки наличия влияния проведенной химиотерапии на липидный профиль крови пациентов с III-IV стадиями РЯ ВСЗ был проведен анализ образцов плазмы пациентов после 3 - 4 курсов системной НАХТ. На основании выявленных 55 липидов в режиме положительных ионов ( $Se=94.44\%$ ,  $Sp=81.13\%$ , ПЦ «+»= $62.96\%$ , ПЦ «-»= $97.73$ ) и 48 липидов в режиме отрицательных ионов ( $Se=94.44\%$ ,  $Sp=64.15\%$ , ПЦ «+»= $47.22\%$ , ПЦ «-»= $97.14$ ) были построены модели (Рисунок 3.67, Таблица 3.56), - показаны значимые различия липидных профилей крови пациентов до после химиотерапевтического воздействия.

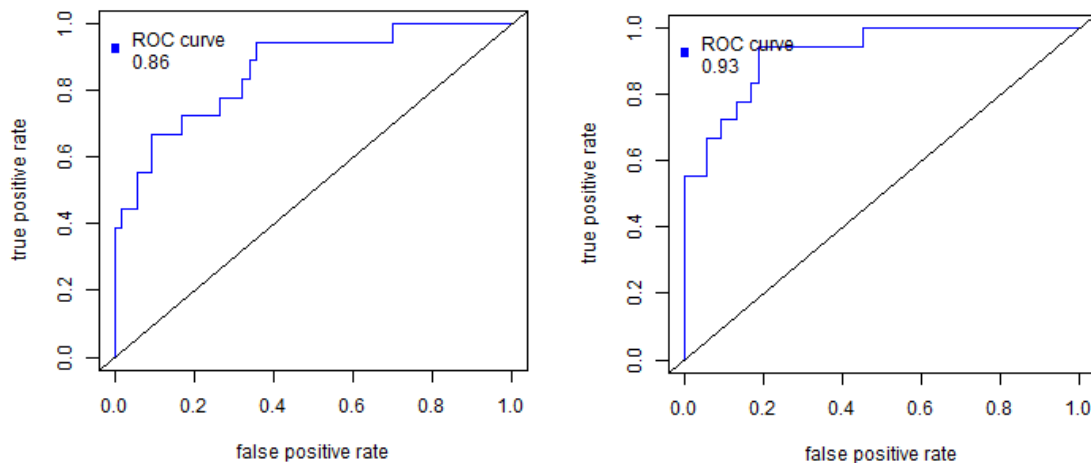


Рисунок 3.67 - ROC-кривые, полученные при сравнении образцов плазмы крови пациентов с III-IV стадиями РЯ ВСЗ до и после проведения системной химиотерапии (1 – режим отрицательных ионов,  $AUC = 0,86$ ,  $Se = 0,94$ ,  $Sp = 0,64$ ; 2 – режим положительных ионов,  $AUC = 0,93$ ,  $Se = 0,94$ ,  $Sp = 0,81$ )

Таблица 3.56 - Показатели предикторной ценности определения липидного профиля плазмы крови пациентов с РЯ ВСЗ до и после химиотерапевтического воздействия при помощи метода ВЭЖХ-МС в режиме отрицательных и положительных ионов

Сравниваемые группы	ПЦ «+», %	ПЦ «-», %	AUC, %	Se, %	Sp, %
До лечения – после НАХТ (РОИ)	47,22	97,14	86	94	64
До лечения – после НАХТ (РПИ)	62,96	97,73	93	94	81

Наиболее значимо различались липиды, представленные на Рисунке 3.68.

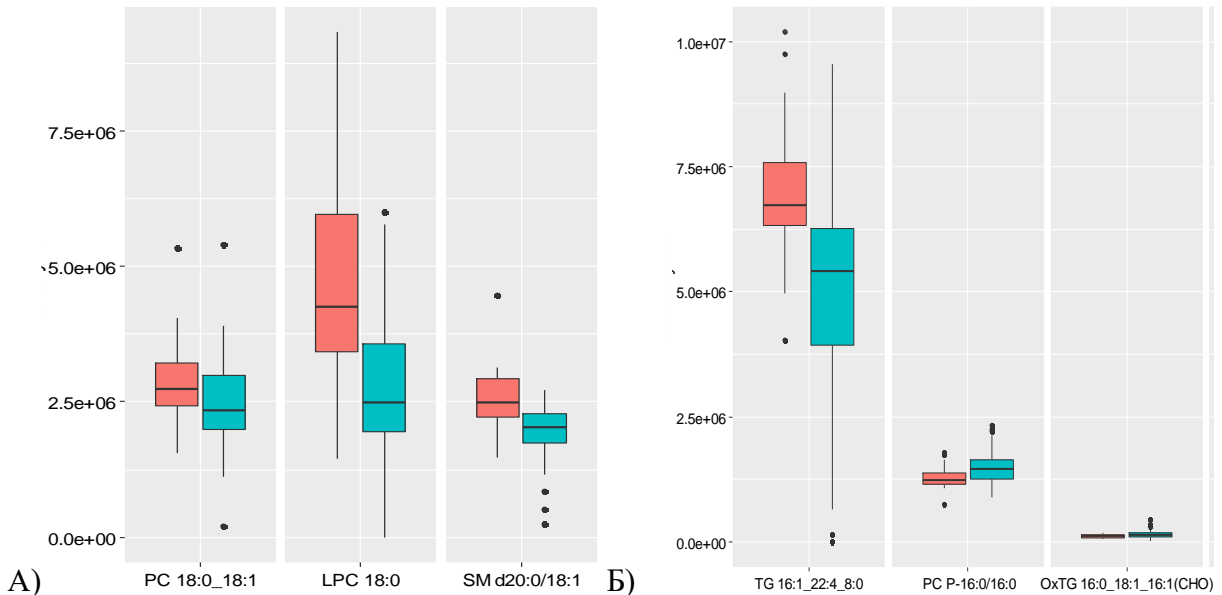


Рисунок 3.68 – Уровни липидов в режимах отрицательных и положительных ионов, значительно различимых в образцах плазмы крови пациентов А) после (оранжевый бокс) и Б) до (бирюзовый бокс) химиотерапевтического воздействия

Для моделей, построенных на основании различий липидных профилей (в том числе TG 16:1 22:4 8:0, PC P-16:0/16:0, OxTG 16:0 18:1 16:1, SMD16:1/14:0) пациентов до и после химиотерапевтического воздействия, были характерны показатели чувствительности и специфичности 94% и 81%, соответственно (площадь под ROC-кривой 93%).

На примере пациентов, которым первым этапом была проведена НАХТ (3 – 4 курса платиносодержащих препаратов) было показано, что проведение химиотерапевтического лечения отображается на изменении липидного профиля крови пациентов с РЯ ВСЗ.

### 3.3.4 Прогнозирование исходов лечения пациентов с распространенными стадиями рака яичников высокой степени злокачественности по липидному профилю крови

Известно, что канцерогенез, метастатический потенциал опухоли, а также ее чувствительность к терапии во многом определяются изменением метаболической активности опухолевых клеток и их микроокружения [99], [223]. Возможность прогнозирования клинического исхода проводимого лечения на основании изменений липидного профиля крови, обнаруженных до начала лечения, является перспективной задачей. Рядом авторов была показана взаимосвязь молекулярных механизмов канцерогенеза и изменений липидного профиля, которая может быть изучена с позиций как диагностики, так и предикции течения и исходов лечения РЯ ВСЗ.

### Анализ предикторной ценности определения липидного профиля сыворотки крови у пациентов с распространенными стадиями РЯ ВСЗ

Был проведен анализ предикторной значимости определения липидов сыворотки крови. Для этого изучена взаимосвязь липидного профиля крови до лечения и наступления рецидива: проведено сравнение липидных профилей образцов крови пациентов, у которых в течение наблюдения наступил рецидив заболевания, и пациентов, у которых данный период характеризуется отсутствием признаков рецидива или прогрессирования заболевания [3].

В исследуемую группу были включены 25 пациентов, которым выполнена первичная циторедуктивная операция без остаточной опухоли (полная ЦРО), после которой проведено химиотерапевтическое лечение, содержащее препараты платины и таксаны. Для оценки первых данных о чувствительности к препаратам платины в исследование были включены пациенты, с момента завершения комбинированного лечения которых прошло 6 и более месяцев, проведен анализ исходов (частота рецидива, процент годовой выживаемости без прогрессирования).

Медиана наблюдения составила 14 мес. За время наблюдения у 9 пациентов наступило прогрессирование или рецидив заболевания, в том числе у 3 пациентов отмечен платинорезистентный рецидив. При достижении 6 и более мес. с момента окончания комбинированного лечения у 22 пациентов была отмечена чувствительность к проводимой платиносодержащей терапии, у 13 из них - стабилизация. В группе пациентов с зарегистрированным неблагоприятным исходом было отмечено повышение в сыворотке крови производных лизофосфатидилхолинов ОхLPC (22:2(OO)) и глицерофосфолипидов PEtOH (20:1\_20:1)-Н пропорционально вероятности рецидива или прогрессирования РЯ ВСЗ в течение 12 мес. после окончания комбинированного лечения заболевания (Рисунок 3.69).

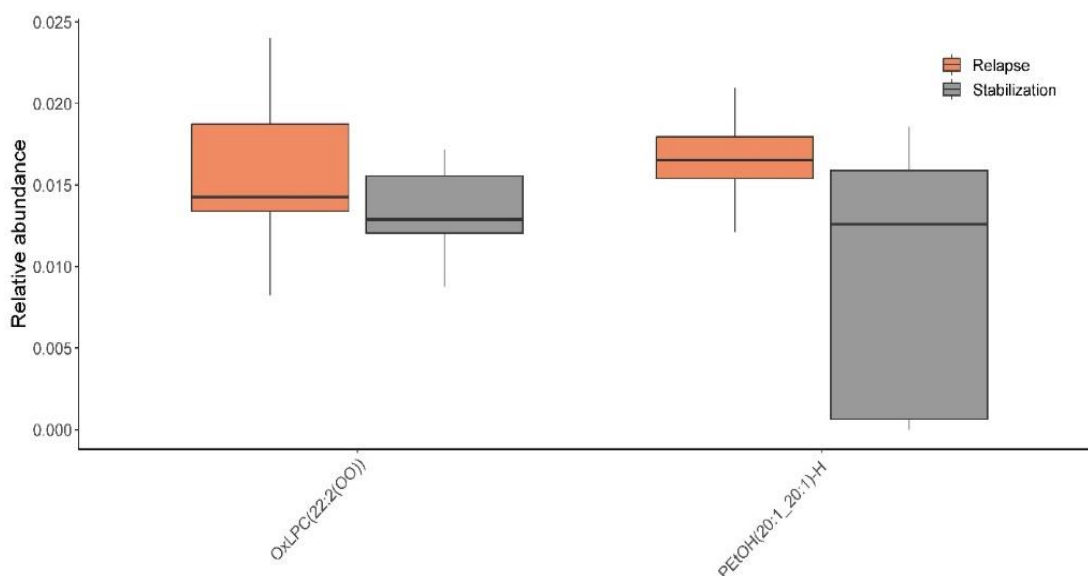


Рисунок 3.69 - Бокс-диаграммы уровней липидов, которые статистически значимо отличаются в рассматриваемых группах «рецидив / прогрессирование» (оранжевые диаграммы размаха) и «стабилизация» (серые диаграммы размаха)

### Анализ предикторной ценности определения липидного профиля плазмы крови у пациентов с распространенными стадиями РЯ ВСЗ

Для изучения предикторной ценности определения липидного профиля крови был проведен анализ взаимосвязи между спектром липидов до начала комбинированного лечения (первичная или интервальная циторедуктивная операция и 6 курсов платиносодержащей химиотерапии) и онкологическими исходами (чувствительность к лечению препаратами платины, частота наступления рецидива заболевания после НАХТ и ПЦРО в установленные периоды наблюдения). Онкологические исходы оценивались только для пациентов, операция у которых была выполнена без остаточной опухоли (полная циторедукция, СС0).

Медианы наблюдения за пациентами значимо не различались (лог-ранк критерий Мантеля-Кокса,  $p=0,486$ ): после полной циторедуктивной операции медиана наблюдения составила  $33 \pm 9,4$  мес. (95% ДИ: 14,5 - 51,5 мес), после циторедуктивной операции, выполненной с остаточными проявлениями опухолевого процесса любого размера (2,5 мм и более) -  $31 \pm 3,845$  мес. (95% ДИ: 23,5 – 42,7 мес.).

Для изучения предикторной ценности определения липидного профиля крови был проведен анализ взаимосвязи между липидным профилем крови до начала комбинированного лечения (первичная циторедуктивная операция и 6 курсов послеоперационной платиносодержащей химиотерапии) и онкологическими исходами, наступившими до 6 мес. (выяснение платиночувствительности), через 12-24 мес. (период наиболее высокой частоты рецидива заболевания), через 30 и более мес. (длительная ВВП, наиболее благоприятное течение).

На первом этапе было показано, что липидные профили пациентов после комбинированного лечения, включавшего первичную или интервальную циторедукцию, значимо различаются у пациентов, у которых в течение периода наблюдения за пациентами (выбран срок 30 мес.) наступил рецидив заболевания и тех, у кого рецидив за время наблюдения зарегистрирован не был (Таблица 3.57, Рисунок 3.70).

Таблица 3.57 - Показатели предикторной ценности определения липидного профиля плазмы крови пациентов с РЯ ВСЗ до и после химиотерапевтического воздействия при помощи метода ВЭЖХ-МС (РОИ, РПИ)

Сравниваемые группы	AUC, %	Se, %	Sp, %
До лечения – рецидив (РОИ)	87	92	73
До лечения – рецидив (РПИ)	81	76	76
После НАХТ -рецидив (РОИ)	< 70	< 70	< 70
После НАХТ – рецидив (РПИ)	90	80	89

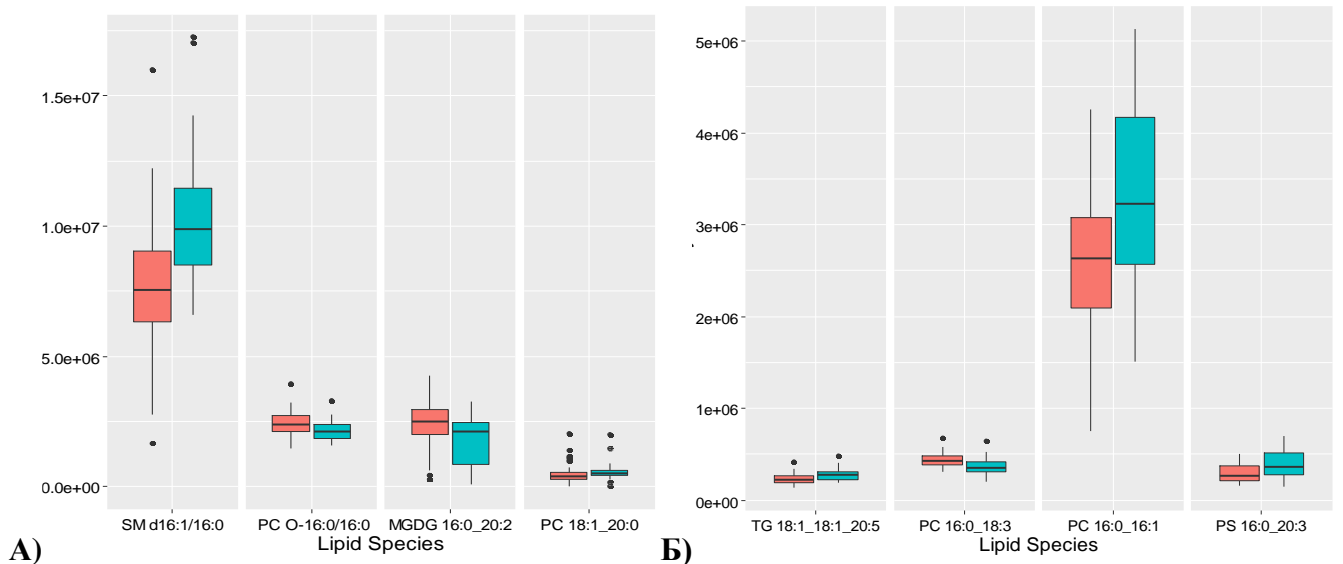


Рисунок 3.70 – Уровни липидов (РОИ), значительно различимых в образцах плазмы крови пациентов А) перед комбинированным лечением, Б) после НАХТ, у которых в течение 30 мес. наблюдения наступил рецидив (оранжевые диаграммы размаха) или рецидив заболевания не выявлен (бирюзовые диаграммы размаха)

Для построения моделей, дифференцирующих образцы крови пациентов с III-IV стадиями РЯ ВСЗ до лечения, у которых в течение 30 мес. наблюдения произошел рецидив заболевания и при отсутствии рецидива заболевания, значимыми были 106 липидов, 64 из них зарегистрированы в режиме положительных ионов (Рисунок 3.71 А). Аналогично были построены модели для образцов крови пациентов, которым первым этапом было проведено химиотерапевтическое лечение (Рисунок 3.71 Б).

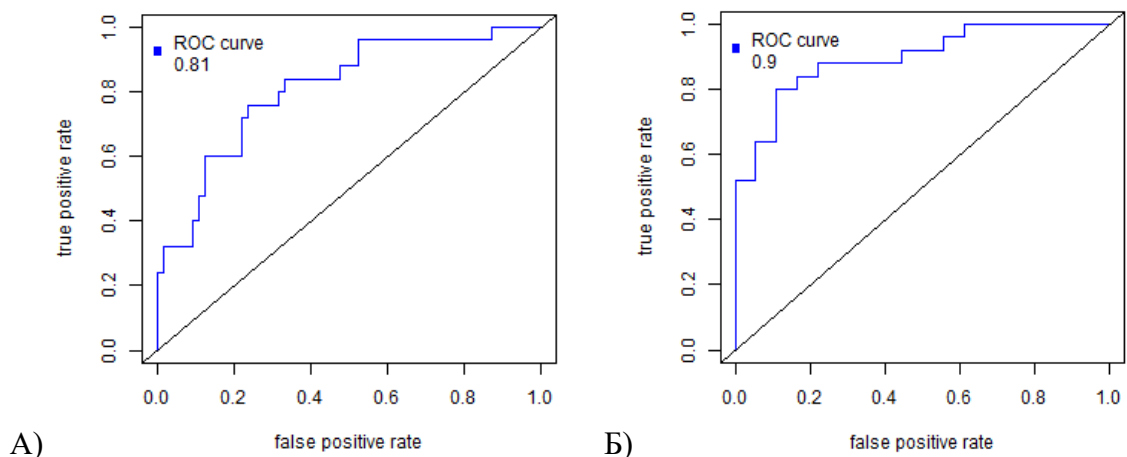


Рисунок 3.71 - ROC-кривые, полученные при сравнении образцов плазмы крови пациентов с III-IV стадиями РЯ ВСЗ до лечения, у которых в течение 30 мес. наблюдения произошел рецидив заболевания и при отсутствии рецидива заболевания: А) до лечения (AUC = 0,81, Se = 0,76, Sp = 0,76); Б) после НАХТ (AUC = 0,9, Se = 0,8, Sp = 0,89)

Проведен анализ наличия чувствительности к проводимой платиносодержащей химиотерапии у пациентов, которым была выполнена первичная циторедуктивная операция. Было установлено, что у пациентов с РЯ ВСЗ, рецидив у которых наступил до истечения 6 мес. после окончания комбинированного лечения (платинорезистентный рецидив, n=7) в режиме

положительных ионов было идентифицировано повышение 11 липидов и снижение 3 (по сравнению с группой пациентов, опухоль которых оказалась чувствительной к платиносодержащей химиотерапии) липидов. Особенности липидного профиля плазмы крови пациентов, у которых в течение периода наблюдения отмечен платинорезистентный (< 6 мес.) или платиночувствительный ( $\geq$  6 мес.) рецидив заболевания, представлен в Таблице 3.58.

Таблица 3.58 – Липиды-предикторы резистентности к платиносодержащей химиотерапии

Липид	Чувствительность к препаратам платины	Платинорезистентность	p value	Изменение
<b>Режим положительных ионов</b>				
HexCer-NS d18:1/22:0	1.49e+05 1.18e+05;1.83e+05	1.98e+05 1.8e+05;2.15e+05	0.044324794	↑
PC 20:3_22:3	5.29e+05 4.16e+05;6.65e+05	7.36e+05 7.06e+05;7.64e+05	0.018732089	↑
Plasmany-PC O-22:0/20:4	9.16e+05 7.32e+05;1.21e+06	1.45e+06 1.32e+06;1.64e+06	0.014615719	↑
Plasmany-PC O-24:0/20:5	1.82e+06 1.56e+06;2.88e+06	3.38e+06 2.84e+06;3.82e+06	0.029491967	↑
Plasmenyl-PC P-20:0/18:2	1.53e+06 1.04e+06;1.82e+06	2.12e+06 2.03e+06;2.23e+06	0.012826748	↑
Plasmenyl-PC P-20:0/20:4	3.05e+06 2.47e+06;3.6e+06	4.05e+06 3.96e+06;4.16e+06	0.003742944	↑
Plasmenyl-PC P-22:0/20:4	1.31e+06 1.04e+06;1.59e+06	2.33e+06 2.06e+06;2.69e+06	0.003117673	↑
Plasmenyl-PC P-22:1/18:2	1.41e+06 1.12e+06;1.93e+06	2.16e+06 1.93e+06;2.46e+06	0.023656101	↑
Plasmenyl-PC P-22:1/20:4	1.44e+06 1.05e+06;1.78e+06	2.04e+06 1.7e+06;2.56e+06	0.026443769	↑
SM d18:1/20:0	1.02e+07 9.33e+06;1.12e+07	1.14e+07 1.09e+07;1.24e+07	0.047175232	↑
SM d18:1/24:0	1.99e+07 1.27e+07;2.6e+07	3.04e+07 2.66e+07;3.37e+07	0.044324794	↑
TG 16:0_16:0_18:1	9.34e+06 7e+06;1.2e+07	5.6e+06 4.37e+06;6.68e+06	0.012941517	↓
TG 16:0_18:0_18:4	9.76e+05 8.75e+05;1.09e+06	8.27e+05 8.12e+05;8.62e+05	0.040173686	↓
TG 8:0_8:0_8:0	-5.57e+04 -1.51e+05;-1.98e+04	-1.6e+05 -1.64e+05;-1.39e+05	0.048762484	↓
<b>Режим отрицательных ионов</b>				
OxPC 18:1_16:1	3.03e+06 2.48e+06;3.38e+06	3.54e+06 3.34e+06;3.84e+06	0.036343899	↑
SM d20:0/18:2	5.54e+05 4.95e+05;6.37e+05	6.68e+05 6.47e+05;7.39e+05	0.048762484	↑

Обнаружение изменения перечисленных липидов в крови пациентов до начала комбинированного лечения является клинически значимым для прогнозирования риска резистентности к платиносодержащей химиотерапии. При отсутствии чувствительности к проводимой платиносодержащей химиотерапии у 7 пациентов до начала лечения было отмечено

повышение HexCer-NS d18:1/22:0, PC20:3\_22:3, Plasmanyl-PC (O-22:0/20:4; O-24:0/20:5; P-20:0/18:2; P-20:0/20:4; P-22:0/20:4; P-22:1/18:2; P-22:1/20:4), SM (d18:1/20:0; d18:1/24:0; d20:0/18:2) и OxPC 18:1\_16:1, а также снижение TG (8:0\_8:0\_8:0; 16:0\_16:0\_18:1; 16:0\_18:0\_18:4). В связи с повышенным риском резистентности к платиносодержащей терапии у данных пациентов им может быть предложен более тщательный мониторинг для своевременного выявления рецидива заболевания или пересмотр исходных схем проводимой терапии.

Проведено исследование наличия липидных предикторов наступления рецидива по окончании первого года наблюдения за пациентами после комбинированного лечения (ПЦРО + 6 курсов ХТ). В плазме крови пациентов, у которых в течение 12-24 мес. наблюдения был выявлен рецидив, перед началом комбинированного лечения было статистически значимо повышено содержание 21 и снижено содержание 4 из 25 перечисленных липидов. Особенности липидного профиля плазмы крови данных пациентов приведены в Таблице 3.59.

Таблица 3.59 – Уровни липидов крови до начала лечения пациентов, у которых в течение 12-24 мес. наблюдения отмечен рецидив заболевания или рецидив не выявлен

Липид	Рецидив	Рецидива нет	p value	Изменение
<b>Режим положительных ионов</b>				
CE 18:2	7.43e+07 6.33e+07;8.18e+07	5.78e+07 2.31e+07;7.13e+07	0.007395658	↑
PC 16:0_20:1	3.31e+07 3.05e+07;4.06e+07	3e+07 2.51e+07;3.47e+07	0.03648685	↑
PC 18:0_18:2	1.62e+08 1.11e+08;1.92e+08	8.74e+07 5.01e+07;1.46e+08	0.007921422	↑
PC 18:0_20:5	2.38e+07 1.64e+07;3.37e+07	1.73e+07 1.43e+07;2.5e+07	0.049643676	↑
PC 18:3_20:5	2.95e+06 1.99e+06;3.78e+06	1.95e+06 1.47e+06;2.76e+06	0.018766707	↑
PE 18:0_20:5	3.86e+05 3.15e+05;5.73e+05	3.2e+05 2.53e+05;4.46e+05	0.049118576	↑
Plasmanyl-PC O-16:0/16:0	2.58e+06 2.41e+06;2.78e+06	2.3e+06 1.9e+06;2.58e+06	0.013549402	↑
Plasmanyl-PC O-18:0/18:1	1.3e+06 7.64e+05;1.76e+06	8.65e+05 6.28e+05;1.31e+06	0.027640514	↑
Plasmanyl-PC O-18:1/16:0	5.47e+06 5.07e+06;5.82e+06	4.83e+06 4.37e+06;5.47e+06	0.044279129	↑
Plasmanyl-PC O-24:1/20:5	9.84e+05 7.56e+05;1.13e+06	7.24e+05 5.49e+05;1.07e+06	0.01006782	↑
Plasmeryl-PC P-16:0/18:1	2.83e+06 2.15e+06;3.07e+06	2.22e+06 1.8e+06;2.78e+06	0.049118576	↑
Plasmeryl-PC P-20:0/20:4	3.55e+06 2.94e+06;3.92e+06	2.79e+06 2.36e+06;3.36e+06	0.023736827	↑
Plasmeryl-PC P-22:0/20:4	1.45e+06 1.1e+06;2.19e+06	1.18e+06 9.04e+05;1.47e+06	0.033273352	↑
Plasmeryl-PC P-22:1/20:4	1.55e+06 1.28e+06;1.96e+06	1.17e+06 9.4e+05;1.61e+06	0.008452873	↑

Продолжение Таблицы 3.59

Липид	Рецидив	Рецидива нет	p value	Изменение
Plasmenyl-PC P-24:1/20:5	7.68e+05 6.9e+05;9.5e+05	6.86e+05 5.72e+05;7.57e+05	0.015335762	↑
SM d18:1/20:0	1.06e+07 9.63e+06;1.17e+07	9.81e+06 8.56e+06;1.07e+07	0.040498167	↑
TG 10:0_8:0_8:0	-2.32e+05 -4.41e+05;-1.76e+05	-1.78e+05 -4.18e+05;-4.85e+02	0.039842153	↓
TG 16:0_18:0_18:4	8.95e+05 8.27e+05;9.74e+05	1e+06 8.67e+05;1.16e+06	0.03578241	↓
TG 16:1_18:2_22:6	2.32e+06 1.7e+06;2.93e+06	1.52e+06 1.14e+06;2.08e+06	0.026616833	↑
TG 18:0_18:1_18:2	1.16e+07 1.06e+07;1.27e+07	1.32e+07 1.19e+07;1.42e+07	0.031098796	↓
TG 18:1_18:3_18:4	1.01e+06 6.79e+05;1.2e+06	6.01e+05 4.89e+05;8.59e+05	0.013549402	↑
TG 8:0_8:0_8:0	-8.45e+04 -1.61e+05;-5.22e+04	-5.22e+04 -1.42e+05;-1.33e+03	0.016636837	↓
<b>Режим отрицательных ионов</b>				
MGDG 16:0_20:3	9.43e+05 5.41e+05;1.37e+06	5.97e+05 3.31e+05;8.97e+05	0.018356922	↑
PC 16:0_20:5	1.84e+06 1.07e+06;2.62e+06	1.07e+06 6.71e+05;1.79e+06	0.023184915	↑
SM d20:0/16:0	4.75e+05 3.81e+05;5.05e+05	3.61e+05 2.47e+05;4.67e+05	0.020650232	↑

Повышение в плазме крови пациентов до начала комбинированного лечения СЕ 18:2, РС (16:0\_20:1; 16:0\_20:5; 18:0\_18:2; 18:0\_20:5; 18:3\_20:5), РЕ 18:0\_20:5, Plasmany-PC (О-16:0/16:0; О-18:0/18:1; О-18:1/16:0; О-24:1/20:5; Р-16:0/18:1; Р-20:0/20:4; Р-22:0/20:4; Р-22:1/20:4; Р-24:1/20:5), SM (d18:1/20:0; d20:0/16:0) и MGDG 16:0\_20:3, а также снижение TG (8:0\_8:0\_8:0; 10:0\_8:0\_8:0; 16:0\_18:0\_18:4; 16:1\_18:2\_22:6; 18:1\_18:1\_18:2; 18:1\_18:3\_18:4) ассоциированы с наступлением рецидива заболевания в течение 12-24 мес.

В дальнейшем был проведен анализ различий липидных профилей у пациентов в зависимости от длительности ВБП после окончания комбинированного лечения. Сроки наступления рецидива, маркерные представители конкретных периодов наблюдения, а также показатели диагностической точности моделей, прогнозирующих наступление рецидива заболевания у пациентов, приведены в Таблице 3.60.

Таблица 3.60 – Показатели диагностической точности моделей, прогнозирующих наступление рецидива заболевания у пациентов с РЯ ВСЗ после комбинированного лечения, включавшего первичную полную ЦРО, в зависимости от исходного липидного профиля плазмы крови

Липид	Коэффициент <sup>1</sup>	z	p-value	Срок, мес.	AUC	Se	Sp
<b>Режим положительных ионов</b>							
TG 16:1_18:0_18:1	-3,87E-05	-3,44036	0,00058	<b>12</b>	0,9	0,99	0,71
<b>TG 18:0_18:1_18:2</b>	4,62E-07	2,196278	0,028				
PC 18:0_20:5	-1,12E-07	-6,05578	1,40E-09	<b>18</b>	0,88	0,92	0,7
TG 16:1_18:1_18:1	-5,56E-06	-2,74373	0,0061				
DG 16:0_18:1	-5,59E-06	-2,73791	0,0062	<b>30</b>	0,91	0,81	0,99
Cer-NS d20:2/24:2	-2,23E-05	-5,77361	7,80E-09	<b>36</b>	0,99	0,99	0,99
PEtOH 16:0_22:0	8,36E-07	3,171741	0,0015	<b>42</b>	0,99	0,99	0,99
TG 18:1_18:3_18:4	1,20E-06	3,507331	0,00045				
<b>Режим отрицательных ионов</b>							
Cer-NS d18:1/22:0	-1,25E-05	-4,15855	3,20E-05	<b>18</b>	0,85	0,77	0,9
<b>Plasmeyl-PE P-16:0/22:6</b>	1,71E-06	3,449529	0,00056				
Cer-NS d18:1/22:0	-1,10E-05	-4,15033	3,30E-05	<b>24</b>	0,82	0,71	0,88
Plasmeyl-PE P-16:0/22:6	1,64E-06	3,410428	0,00065				
Cer-NS d18:1/22:0	-1,16E-05	-4,79177	1,70E-06	<b>30</b>	0,85	0,99	0,6
Plasmeyl-PE P-16:0/22:6	1,63E-06	3,188609	0,0014				

Продолжение Таблицы 3.57

Липид	Коэффициент <sup>1</sup>	z	p-value	Срок, мес.	AUC	Se	Sp
Cer-NS d18:1/22:0	-1,24E-05	-5,17172	2,30E-07	<b>36</b>	0,93	0,99	0,75

Примечание: <sup>1</sup> – регрессия Кокса, Z - критерий Вальда (характеризует значимость коэффициента, при значении  $z < 0$  - риск рецидива в течении указанного срока наблюдения снижается, при значении коэффициента  $> 0$  – увеличивается)

Из перечисленных липидов были отобраны маркеры наступления рецидива после первичной полной циторедуктивной операции в следующие сроки: 12 мес. – повышение TG 18:0\_18:1\_18:2, 18 мес. – повышение Plasmeyl-PE P-16:0/22:6. Изменение других липидов (повышение PEtOH 16:0\_22:0 и TG 18:1\_18:3\_18:4) является предикторным для наступления рецидива в более поздние сроки (более 30 мес.) и ассоциировано с более длительной ВВП пациентов с распространенным РЯ ВСЗ после первичной полной циторедуктивной операции. В дальнейшем планируется изучение биомаркерной ценности перечисленных липидов в мониторинге прогрессирования и рецидива заболевания.

Аналогично проведенному анализу предикторной ценности исследования липидного профиля после комбинированного лечения, включавшего первичную полную циторедукцию, была исследована возможность прогнозирования онкологических исходов после НАХТ и интервальной циторедуктивной операции, выполненной без остаточной опухоли (CC0). Было

показано, что повышение в плазме крови пациентов после НАХТ LPC (18:1; 20:4), LPE 18:0; 20:4), OхCL (16:0\_18:2\_20:4; 2\_22:6), PI 18:0\_20:4; 18:1\_20:4, MGDG 16:0\_20:0, OхLPC 18:3, OхPC 18:2\_14:1, OхTG 16:0\_18:1\_16:1, PC (16:0\_16:0; 16:0\_18:3), а также снижение Plasmayl-PC (O-22:0/18:2; P-16:0/16:0, -18:0/18:2, -P-24:1/20:5), PC (16:0\_16:0; 16:0\_16:1; 16:0\_18:2; 16:0\_18:3; 16:0\_20:2; 18:2\_20:3), PE 16:0\_22:6, PS 16:0\_20:3, TG (12:0\_18:2\_18:2; 18:1\_18:1\_20:5) ассоциированы с наступлением рецидива заболевания в течение 12-36 мес.

Как показано в Таблице 3.58, снижение Plasmayl-PC P-18:0/18:2 ассоциировано с риском рецидива в течение 12 мес. наблюдения (AUC=0,96, чувствительность 80%, специфичность 99%), снижение Plasmayl-PC P-24:1/20:5 ассоциировано с риском рецидива в течение 18 мес. (второй год наблюдения, AUC=0,9, чувствительность 90%, специфичность 99%).

Таблица 3.61 - Показатели диагностической точности моделей, прогнозирующих наступление рецидива заболевания у пациентов с РЯ ВСЗ после комбинированного лечения, включавшего интервальную полную ЦРО после НАХТ, в зависимости от исходного липидного профиля плазмы крови

Липид	Коэффициент <sup>1</sup>	z	p-value	Срок, мес.	AUC	Se	Sp
Plasmayl-PC P-18:0/18:2	-2,71E-06	-4,23303	2,30E-05	12	0,96	0,8	0,99
Plasmayl-PC P-24:1/20:5	-3,90E-06	-4,84675	1,30E-06	18	0,9	0,9	0,99

Данные о прогностической ценности определения липидного профиля приведены в Таблице 3.62 и представлены на Рисунке 3.72 и в Приложении Б.

Таблица 3.62 – Предикция рецидива заболевания в течение 12-24 мес. после окончания комбинированного лечения пациентов с распространенными стадиями РЯ ВСЗ

Рецидив после НАХТ		Рецидив после ПЦРО	
повышение	снижение	повышение	снижение
LPC (18:1; 20:4), LPE 18:0; 20:4), OхCL (16:0_18:2_20:4; 2_22:6), PI 18:0_20:4; 18:1_20:4, MGDG 16:0_20:0, OхLPC 18:3, OхPC 18:2_14:1, OхTG 16:0_18:1_16:1, PC (16:0_16:0; 16:0_18:3)	Plasmayl-PC (O-22:0/18:2; P-16:0/16:0, -18:0/18:2, -24:1/20:5), PC (16:0_16:0; 16:0_16:1; 16:0_18:2; 16:0_18:3; 16:0_20:2; 18:2_20:3), -PE 16:0_22:6, PS 16:0_20:3, TG (12:0_18:2_18:2; 18:1_18:1_20:5)	OхLPC 22:2, PEтOH 20:1_20:1, CE 18:2, PC (16:0_20:1; 16:0_20:5; 18:0_18:2; 18:0_20:5; 18:3_20:5), PE 18:0_20:5, Plasmayl-PC (O-16:0/16:0; O-18:0/18:1; O-18:1/16:0; O-24:1/20:5; P-16:0/18:1; P-20:0/20:4; P-22:0/20:4; P-22:1/20:4; P-24:1/20:5), SM (d18:1/20:0; d20:0/16:0) и MGDG 16:0_20:3	TG (8:0_8:0_8:0; 10:0_8:0_8:0; 16:0_18:0_18:4; 16:1_18:2_22:6; 18:1_18:1_18:2; 18:1_18:3_18:4)
Отсутствие чувствительности к препаратам платины			
повышение	снижение		
HexCer-NS d18:1/22:0, PC20:3_22:3, SM (d18:1/20:0; d18:1/24:0; d20:0/18:2), OхPC 18:1_16:1, Plasmayl-PC (O-22:0/20:4; O-24:0/20:5; P-20:0/18:2; P-20:0/20:4; P-22:0/20:4; P-22:1/18:2; P-22:1/20:4)	TG (8:0_8:0_8:0; 16:0_16:0_18:1; 16:0_18:0_18:4)		

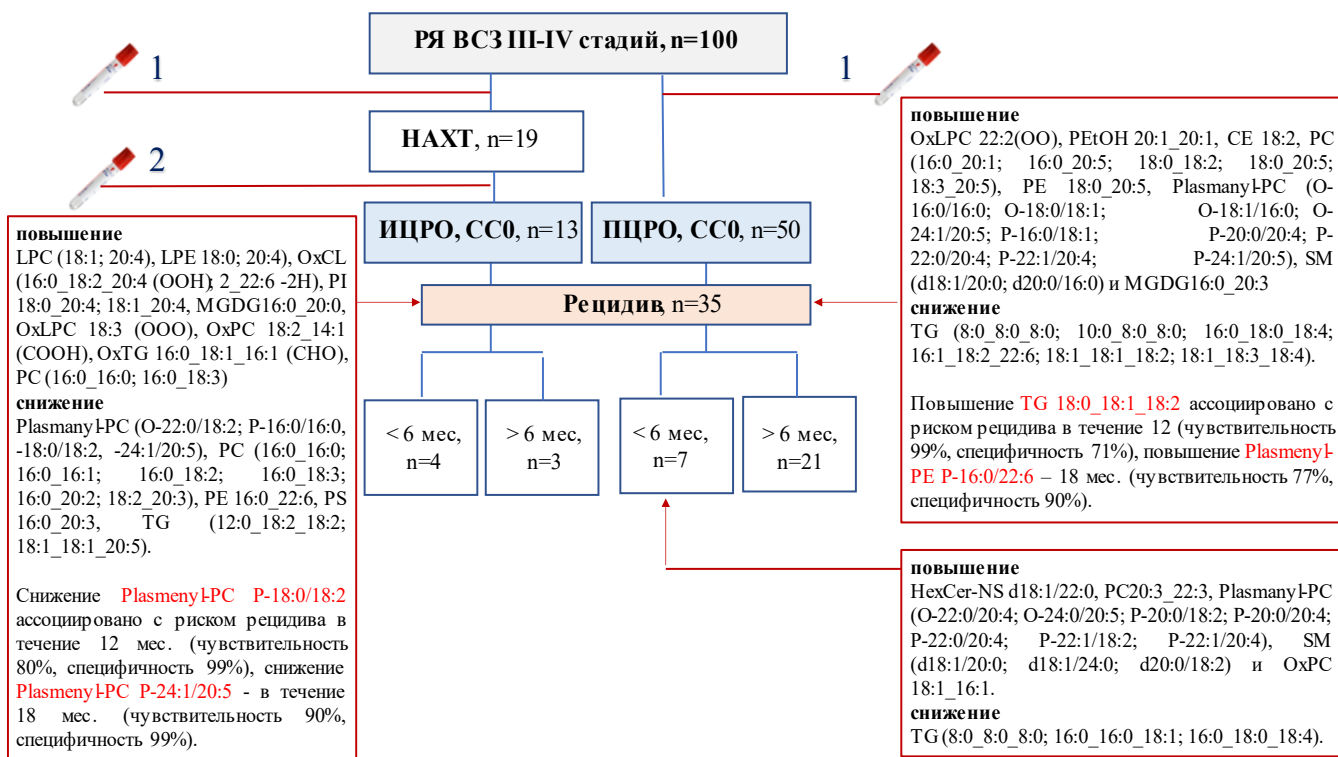


Рисунок 3.72 – Предикция рецидива заболевания у пациентов с распространенным РЯ ВСЗ после лечения. Примечание: образцы крови получены 1 – до начала лечения, 2 – после НАХТ

В результате проведенного исследования было показано, что липидные профили крови динамично изменяются, отображая особенности течения заболевания (более агрессивное течение с повышенным риском рецидивирования в более ранние сроки) и чувствительность опухоли к воздействию химиопрепаратов (изменение профилей после НАХТ, резистентность к препаратам платины).

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

### 4.1 Оценка возможностей клинических методов диагностики опухолей и опухолевидных образований яичников

Решение о выборе тактики ведения пациента с опухолями и опухолевидными образованиями яичников должно основываться на комплексном анализе особенностей клинической картины (симптомы, течение заболевания), информации о наличии заболеваний, составляющих группу отягощающих семейный анамнез пациента по развитию злокачественных новообразований яичников, а также данных инструментально-лабораторных методов диагностики [84]. Европейским обществом гинекологической онкологии (ESGO), Международным обществом УЗИ в акушерстве и гинекологии (ISUOG), Международной группой анализа опухолей яичников (IOTA) и Европейским обществом гинекологической эндоскопии (ESGE) были совместно сформулированы положения рекомендательного характера по предоперационной диагностике ООВОЯ и оценке распространения заболевания, включая показания к применению методов визуализации, исследованию биомаркеров и прогностических моделей [84]. Жалобы пациентов с ООВОЯ неспецифичны и являются субъективным симптомом заболевания. Наиболее часто поводами для обращения к специалисту явились следующие симптомы: болевой синдром (30 – 60,87%) или нарушение менструального цикла (6,9 – 40%) у пациентов с ООВОЯ. У 5,17 - 50% пациентов в зависимости от гистологического типа ООВОЯ не было отмечено симптомов заболевания, в том числе у 50 % пациентов с I-II стадиями РЯ ВСЗ и у 27,59 % пациентов с III-IV стадиями РЯ ВСЗ.

У пациентов отмечается значимое повышение маркеров СА 125 (чувствительность 79,82 %, специфичность 90,48 %) и HE4, при этом чувствительность HE4 не превышает 48,15 % при специфичности 96,9 %, однако, повышает чувствительность исследования маркеров крови при совместном исследовании с СА 125 при расчете ROMA (чувствительность – 89,13 %, специфичность – 96,4 %). Наиболее сложной для предоперационной диагностики является группа пациентов с ПОЯ: чувствительность и специфичность УЗИ органов малого таза, выполненного врачом-экспертом, составляют 46,15% и 97,96%, соответственно.

Полученные данные подтверждают актуальность проблемы отсутствия эффективных мер, направленных на выявление РЯ на ранних стадиях, в связи с которыми в 2/3 случаев диагноз устанавливается на III–IV стадии заболевания, [3], [31], [116], когда 5-летняя выживаемость не превышает 27%, в то время как при обнаружении в I–II она достигает 74-90% [4–5].

Расчет показателей модели ADNEX с учетом маркера СА 125 повышает дифференциально-диагностическую точность УЗИ органов малого таза при всех ООВОЯ (чувствительность 97,3 %, специфичность 98,0 %,  $p < 0,001$ ). При прогнозировании характера злокачественности на

основании данных модели ADNEX при помощи ROC-кривых наиболее высокие значения диагностической точности отмечаются для выявления серозной цистаденомы, ПОЯ, РЯ НСЗ и РЯ ВСЗ (I-II и III-IV стадии).

#### **4.2 Анализ дифференциально-диагностической ценности применения омиксных технологий при доброкачественных, пограничных и злокачественных опухолях и опухолевидных образованиях яичников**

Область иммунологии опухолевого роста и модификаторов биологических реакций прогрессивно развивается. Однако низкая иммуногенность большинства маркеров, гетерогенность гистологических типов рака яичников, физико-химические технические трудности выделения опухолевых антигенов – спектр проблем, решение которых является важным как для качественной диагностики, так и для своевременного надлежащего ведения пациентов с ООВОЯ, поскольку точность диагностических методов существенно определяет своевременность и объем лечения. В диссертационном исследовании проведен анализ диагностической и прогностической ценности применения омиксных технологий в ведении пациентов с доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолевидными образованиями и опухолями яичников.

##### **4.2.1 Анализ возможностей применения метода исследования липидного профиля крови для дифференциальной диагностики опухолей и опухолевидных образований яичников**

Данная часть диссертационного исследования посвящена изучению возможности проведения диагностических тестов для усовершенствования дифференцированного подхода к ведению пациентов с различными ООВОЯ, а также анализу возможности развития данного метода для раннего выявления серозного РЯ ВСЗ.

Процессы, сопряженные с канцерогенезом эпителиальных новообразований яичников, приводят к изменениям метаболома, в том числе липидного профиля крови [116], [239]. Изменения липидного профиля при опухолях и опухолевидных образованиях яичников могут быть объяснены ускоренной пролиферацией клеток, требующей соответствующего изменения системного метаболизма. Несмотря на то, что метод ВЭЖХ-МС не является рутинным для использования в клинической практике, он один из наиболее точных для установления биохимических изменений метаболома [255]. Липиды представляют собой «удобный» объект для изучения и построения наглядных диаграмм: например, фосфолипиды хорошо ионизируются и поэтому представлены в масс-спектре интенсивными пиками. В масс-спектре определяют разнообразные молекулярные виды липидов, как было отмечено, некоторые из которых специфичны для РЯ. М. Vuas и соавт. (2016 г.) провели исследование «случай-контроль», в

процессе которого при помощи ВЭЖХ-МС проанализировали по 50 образцов плазмы крови пациентов, подвергшихся оперативному лечению по поводу серозного рака или серозных доброкачественных опухолей (группа контроля) яичников [122]. Установлено, что 34 метаболита из 372 обнаруженных статистически значимо отличались в группах. Авторы пришли к выводу, что выявленные отличия метаболического профиля могут способствовать повышению точности дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных заболеваний яичников. После исключения образцов плазмы пациентов, у которых не изучен маркер СА 125, в исследовании осталось лишь 84 образца (44 – РЯ; 40 – доброкачественные опухоли в группе контроля). В исследование включили только женщин постменопаузального возраста, что также следует отнести к важному ограничению дизайна рассматриваемого анализа. Помимо этого, использование крови пациентов с наличием доброкачественной опухоли яичников в качестве группы контроля не исключает «химеризм» липидного профиля, который может быть характерен для каждого заболевания [198]. В связи с чем более информативные и точные данные могут быть получены при сравнении с исследуемой группой пациентов, где при скрининго-диагностическом обследовании отсутствовали результаты об объемных образованиях яичников («здоровые добровольцы»). Аналогично вышеописанному исследованию М. Вуас и соавт. (2016 г.) [122]. в работе У. Ноу и соавт. (2016 г.) группу контроля составили пациенты с наличием патологии репродуктивных органов: несмотря на достаточно большую выборку пациентов, сопоставление липидных профилей крови проводилось между группами пациентов с РЯ, доброкачественными образованиями яичников и миомой матки [77], – ранее доказан вклад каждого из заболеваний в изменение липидного профиля крови, что необходимо учитывать при наборе группы контроля. Однако авторы получили важные сведения об изменении липидного профиля – снижение в плазме крови пациентов с РЯ уровня глицеролипидов наряду с повышением сфинголипидов.

Первой выдвинутой гипотезой в проведенном диссертационном исследовании было предположение о наличии различий липидного профиля сыворотки крови здоровых добровольцев и пациентов с ООВОЯ. Данное утверждение нашло подтверждение в ряде проведенных исследований. R.J. Niemi и соавт. изучили изменения липидного профиля при ранних стадиях серозного РЯ (n=138), пограничных (n=25) и доброкачественных (n=191, группа контроля) опухолях яичников. Было проанализировано 354 образцов плазмы и сыворотки крови женщин как пре-, так и постменопаузального возраста. Получены идентичные изменения 39 липидов в образцах пациентов независимо от стадии заболевания (ранняя или поздняя) и возраста пациентов. Более того, на примере 23 липидов была показана аналогичная тенденция изменений при сравнении жидкостей при опухолях различных локализаций и гистологических типов [176]. Полученные ими данные свидетельствуют о некоторой однотипности изменений, но в то же время авторы говорят о том, что анализ липидного профиля повышает диагностическую

ценность исследования СА 125 при ранних стадиях РЯ, а также не исключают возможности липидов выступать в роли метаболически-активной терапевтической мишени, что, однако, заслуживает продолжения исследований. В представленном исследовании была проанализирована сыворотка крови женщин репродуктивного возраста. В группе пациентов с I–II стадиями чувствительность определения индекса ROMA достигла 77,5%, расчет индекса для пациентов с III–IV стадиями рака яичников – 99,9% (ROMA=83,36%; СА 125=856,43 ЕД/мл, HE4=398,42 пмоль/л). Полученные данные о высокой информативности созданных статистических моделей подтверждают возможность применения обнаруженного перечня липидов для повышения чувствительности и специфичности рутинных методов неинвазивной предоперационной диагностики.

В результате проведенного в рамках диссертационной работы исследования было показано, что анализ липидного профиля крови при помощи метода ВЭЖХ-МС позволяет дифференцировать образцы крови пациентов с различными образованиями яичников с высокими показателями диагностической точности построенных моделей.

Пограничные опухоли чаще встречаются у женщин более молодого возраста, чем злокачественные новообразования яичников [14], сопровождаются более благоприятным прогнозом (10-летняя выживаемость более 90%) в первую очередь благодаря низкому риску рецидивирования. Их митотическая активность повышается, однако склонность к стромальной инвазии отсутствует [182]. В связи с вышеописанным у пациентов возможно проведение хирургического лечения в органосберегающем объеме [182]. В проведенном диссертационном исследовании представлены данные сравнения липидных профилей крови пациентов с пограничными опухолями яичников и пациентов с РЯ ВСЗ и здоровых добровольцев. Данные пациенты впервые подверглись хирургическому лечению по поводу имеющегося у них новообразования яичников. Было выявлено 109 специфичных липидов, при этом 23/25 были статистически значимо повышены примерно в 32.5-64 раза, 2/25 – снижены. В результате данного исследования было показано, что анализ липидного профиля сыворотки крови при помощи метода ВЭЖХ-МС позволяет дифференцировать образцы крови пациентов с ПОЯ и РЯ ВСЗ ранних и распространенных стадий. Наиболее значимыми для дифференциации образцов являются липиды-представители двух классов: глицерофосфолипиды и лизофосфатидилхолины. Площадь под кривой построенных на их основании моделей достигла 1. Учитывая экстремально малую выборку в данном фрагменте исследования, а также противоречивые результаты статистического анализа (выход образцов за пределы эллипсов Хоттелинга на визуальной диаграмме, показатели оценочных параметров ( $R^2=0,91$ ,  $Q^2=0,36$ )) позволяют лишь наметить тенденции изменения метаболизма липидов при наличии пограничной опухоли яичников, что потенциально может повлиять на повышение качества предоперационной диагностики данной

«особенной» группы пациентов, – большинство женщин на момент установления диагноза находится в репродуктивном периоде (согласно критериям STRAW+10) и заинтересованы в сохранении фертильности. Соответственно в каждом случае тактика и возможность выполнения оперативного вмешательства в органосберегающем объеме должна быть согласована с пациентом на этапе предоперационного планирования, – для принятия взвешенного решения также необходимо обсуждать компетенции активно развивающихся вспомогательных репродуктивных технологий [14]. Наряду с этим усовершенствование диагностических возможностей на предоперационном этапе требует проведения дальнейших исследований. По данным проведенного диссертационного исследования, при серозных ПОЯ, РЯ НСЗ и РЯ ВСЗ наблюдается изменение липидов, значимо отличающее образцы крови пациентов от наблюдаемых группы контроля. Было показано, что наиболее значимо опухолевый процесс отображается на обмене глицеролипидов, линолеиновой кислоты и сфинголипидов посредством механизмов регуляции активности соответствующих сигнальных путей. Выявление различий метаболизма данных путей свидетельствует о гетерогенности биологических изменений, ассоциированных с различными опухолями яичников. Выявление молекулярных изменений дополняет понимание патогенетических процессов, ассоциированных с канцерогенезом и прогрессированием новообразований яичников, а также позволяет дифференцировать доброкачественные, пограничные и доброкачественные опухоли и опухолевидные образования, что имеет непосредственное клиническое значение и практическое применение в их диагностике. На основании профилей крови, состоящих из статистически значимо различаемых липидов, нами была показана возможность дифференцировать образцы крови пациентов с ранними стадиями РЯ ВСЗ от образцов пациентов с ПОЯ, а также образцы крови пациентов с ПОЯ от образцов крови пациентов с РЯ НСЗ. Методология и частично результаты проведенного исследования отображены в статье Токаревой А.О. и соавт. [63].

Изменения липидного состава более выражены при ЗНО яичников, чем при ПОЯ, что было показано в том числе в исследовании С. Denkert и соавт., выполненном с помощью газовой хроматографии или время-пролетной масс-спектрометрии, однако, выборка составила всего 9 образцов [148]. Развитие злокачественной опухоли, в том числе РЯ, сопровождается возрастающим энергетическим запросом активно пролиферирующей опухолевой ткани. Дисрегуляция на любом из этапов передачи ростового сигнала ведет к многочисленным клеточным изменениям, увеличению пролиферативной активности, адгезивных свойств клеток и экспрессии некоторых генов, а также изменению метаболизма липидов. Поскольку в настоящее время отсутствуют адекватные способы высокоточной предоперационной ранней диагностики РЯ были изучены возможности ВЭЖХ-МС как неинвазивного метода выявления IA–IC стадий заболевания по липидному профилю сыворотки. Регистрация изменений липидного профиля,

ассоциированных с опухолевым процессом при РЯ в виде МС-«отпечатков пальцев», и дальнейшее создание классифицирующих моделей продемонстрировали возможность различать липидный профиль здорового человека, а также больных РЯ IIА–IVА стадии заболевания от пациентов с IA–IC, выявление которых с помощью стандартных методов диагностики сопряжено с существенными трудностями наряду с тем, что именно их лечение сопровождается более благоприятным прогнозом. Не менее важной является выявление пациентов с распространенными стадиями серозного рака яичников, встречаемость которых в общей структуре заболевания превышает 70%. Р. Кнарр и соавт. была определена концентрация сфинголипидов плазмы крови (C16-Cer, C18:1-Cer и C18-Cer) у 74 пациентов с III–IV стадиями рака яичников высокой степени злокачественности с помощью ВЭЖХ-МС. Причем при превышении установленных пороговых значений вероятность злокачественного типа опухоли была выше (C16-Cer > 311,88 нг/100 мкл (AUC: 0,76, p=0,0261); C18:1-Cer > 4,75 нг/100 мкл (AUC:0,77, p=0,0160) и C18-Cer > 100,76 нг/100 мкл (AUC:0,77, p=0,0136)), чем у пациентов группы контроля. Аналогичная тенденция была отмечена при исследовании образцов опухолевой ткани: 5 липидов были значимо повышены в образцах исследуемой группы (C16-Cer, C18:1-Cer, C18-Cer, C24:1-Cer, C24-Cer). Мембранно-липидный класс сфинголипидов включает несколько биоактивных малых молекул, которые участвуют в контроле воспаления, пролиферации, и миграции клеток [185]. В этом аспекте интересно отметить значимую роль липидов для опухолевого роста как в качестве мощных индукторов, так и модуляторов воспаления, способствующих неоангиогенезу. Сфинголипиды, в частности церамиды, благодаря способности запускать апоптоз и модулировать рост, обладают как про-, так и антиканцерогенной активностью [48], [111]. Например, следует отметить роль церамидов в индукции первичной локальной ишемии в основе опухолевой трансформации прогениторных клеток, в конечном итоге приводящей к формированию первичных опухолевых очагов. Для других сфинголипидов, сфингозин-1-фосфатов, характерна противоположная способность, направленная на активацию путей «выживания» клетки [20]. В целом, биоактивные метаболиты сфинголипидов являются важными вторичными мессенджерами в опухолевом процессе [48]. В отличие от представленного нами исследования в исследование Р. Кнарр et al. были включены пациенты исключительно с поздними стадиями злокачественного процесса, что может быть ограничением при проведении дифференциальной диагностики [3].

D. A. Gaul и соавт. при масс-спектрометрическом исследовании сыворотки крови 46 пациентов с ранними стадиями эпителиального рака яичников (I-II) выявили 255 метаболитов, отличимых от группы контроля («здоровые добровольцы») [116]. Включение в прогностические модели лизофосфолипидов (лизофосфатидилэтаноламин и лизофосфатидилинозитол),

мембранного липида фосфатидилинозитола и других липидов и жирных кислот (n=16) позволило дифференцировать группу контроля и ранние стадии заболевания.

Согласно полученным данным масс-спектрометрического анализа липидного профиля образцов сыворотки крови пациентов с РЯ ВСЗ и наблюдаемых группы контроля, выполненного в рамках диссертационной работы, показана возможность идентификации различий липидного состава, характерных для ранних стадий серозного РЯ. Наиболее значимыми для дифференциации образцов сыворотки крови пациентов с РЯ ВСЗ I-II стадий заболевания от образцов крови наблюдаемых группы контроля являются липиды 8 классов (фосфатидилхлолины, этаноламины, диглицериды, триглицериды, сфингомиелины, фосфатидилсерины, церамиды, фосфоинозитолы и простагландины), а именно: LPC (14:0, 15:0, 17:0, 18:0, 20:0, 20:2), Plasmeyl-PE (P-16:1/22:6, P-16:0/18:1, P-18:0/18:2, P-18:0/20:4, P-18:0/18:1, P-18:0/20:4, P-18:0/20:3, P-18:1/22:6, P-16:0/18:2, P-16:0/18:1), PEtOH (20:1\_22:2)-H, PG (18:1\_18:2), Plasmany-LPC (O-16:0, O-18:0/18:3, P-16:1/18:0), SM(d20:0/18:4), PC (14:0\_18:2), PS (37:5), PG (13:0\_22:5), Cer-NS (d18:1/24:0). Таким образом, идентификация липидного профиля крови с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрической детекцией липидного профиля сыворотки крови позволяет отличить здорового человека от пациентов с II-IV и Ia-Ic стадиями РЯ, что свидетельствует о возможности использования в составе диагностической панели в качестве маркерных онколипидов ранних стадий РЯ. Изучаемый метод демонстрирует точность в дифференциации различных стадий серозного РЯ методом ВЭЖХ-МС: возможность отнесения пациента к одной из клинических групп (здоровые добровольцы, РЯ ВСЗ I-II стадий, РЯ ВСЗ III-IV стадий) на основании построенных дифференцирующих OPLS-моделей позволяет судить о высокой диагностической ценности изученного метода. Площадь под кривой моделей, построенных на основании профилей значимо различающихся липидов, достигла 0,99-1. Принципиальной особенностью, которую следует учитывать при планировании исследования, посвященного диагностике РЯ, является этапность, заключающаяся в возможности выявить группу пациентов со злокачественным процессом, радикально отличимую от пациентов группы контроля, состоящей из обследованных женщин с исключенной патологией. Затем вторым этапом необходимо провести внутригрупповое сравнение больных с IA-IC и II-IVA стадиями, чтобы различить пациентов с ранними стадиями заболевания и наблюдаемых группы контроля. Данная последовательность позволяет дифференцировать ранние стадии заболевания от нормы и прогрессирующих стадий РЯ.

Полученные данные сопоставлены с результатами исследований, изложенных в доступной мировой литературе, и, согласно проведенному анализу, имеют ряд преимуществ. М. Nilvo и соавт. (2016 г.) обнаружили повышение уровня гидроксibuтиратов (2,4-дигидроксibuтират, 3,4-дигидроксibuтират) в сыворотке крови больных серозным РЯ высокой

степени злокачественности по сравнению с образцами из группы контроля, а также ученые предположили прогностическое значение данного потенциального маркера [26]. Однако ограничением исследования М. Nilvo и многих других является преобладание в структуре исследуемых пациентов с III–IV стадией, что сужает спектр возможностей настоящего метода для диагностики ранних стадий. принципиальной особенностью, которую следует учитывать при планировании исследования, посвященного разработке метода, направленного на выявление серозного РЯ высокой степени злокачественности, является этапность исследования, которая заключается в возможности выявить группу пациентов с злокачественным процессом, радикально отличимую от пациентов группы контроля, состоящей из обследованных с исключенной патологией, затем, вторым этапом, необходимо провести внутригрупповое сравнение (I–II по сравнению с прогрессирующими III–IV), чтобы различить пациентов с I–II стадиями и пациентов группы контроля. Данная последовательность позволяет дифференцировать ранние стадии заболевания от нормы и прогрессирующих стадий серозного РЯ высокой степени злокачественности. Данная последовательность была соблюдена нами при проведении данного фрагмента проспективного исследования.

По данным R.J. Niemi и соавт., при межгрупповом сравнении сыворотки/плазмы крови пациентов с серозным, муцинозным и эндометриоидным РЯ значимых различий состава получено не было, в связи с чем авторы утверждают, что изменения липидного профиля не зависят от гистологического типа РЯ, однако отмечают, что диагностическая ценность определения липидного профиля при муцинозном РЯ приобретает дополнительную ценность с учетом низкой чувствительности и специфичности определения маркера СА 125 для данного гистотипа эпителиальных ЗНО яичников [176]. Ноу и соавт. с помощью метода ВЭЖХ-МС было показано [77], что при муцинозном, эндометриоидном и светлоклеточных гистотипах отмечается повышение глицерофосфолипидов (РС (36:4), LysoPC (18:2) и PE (P-40:5)) по сравнению с серозным гистотипом. Кроме того, авторами была показана возможность повышения точности анализа маркера СА 125 при дополнении к данному исследованию анализа панели из пяти липидов (РС (P-38:4), РС (35:5), РС (34:3), SM (d18:1/17:0) и SM (d18:0/16:1)) до 87.91% (по сравнению с исходным 80.47%). Особенную значимость имеет определение липидов при ранних стадиях (повышение СА 125 не отмечено у 58.33% пациентов с I стадией заболевания). В исследовании E. I. Braicu и соавт. также было установлено статистически значимое повышение чувствительности и специфичности при применении комбинации диагностических методов: авторы определяли уровень СА 125 и концентрацию липидов [113]. Аналогичные данные получены в исследованиях R.J. Niemi и соавт. - было показано повышение диагностической точности при сочетании липидов и маркера СА 125 для выявления I–II стадии рака яичников [31],

[176]. Авторы также предложили наиболее информативные комбинации липидов (церамиды, лизофасфатидилхолин) и СА 125.

Липидные профили здорового человека и пациента с онкологическим заболеванием различаются [113]. Однако на результаты исследования липидного состава также могут оказывать конфаундерное влияние такие факторы как особенности питания, индекс массы тела, циркадианный ритм, гормональный профиль, а также особенности пробоподготовки образцов и их дальнейшей обработки. Все вышперечисленное побуждает к разработке единого протокола для учета перечисленных различий в процессе каждого исследования, в первую очередь тщательный отбор пациентов, сопоставимых по перечисленным выше факторам [125], [168].

Большинство исследований выполнено на биологическом материале женщин менопаузального возраста, и лишь некоторые посвящены группе пременопаузы [113]. Отмечено, что изменения ряда липидов (например, церамидов) у постменопаузальных пациентов более выражены [176]. В исследовании N. Vinayavekhin и соавт. было показано, что после овариэктомии повышается содержание церамидов и фосфолипидов, предположительно, в связи с дефицитом эстрогенов, в то время как концентрация триглицеридов снижается [214]. Было показано, что изменение метаболизма липидов характерно для целого перечня заболеваний. Например, изменения содержания церамидов (d18:1/18:0 и d18:0/18:0) и повышение концентрации кетонных тел характерны не только для РЯ, но и для сахарного диабета 2 типа, что указывает на метаболическое сходство двух патологических процессов [176]. В связи с чем перед каждым из этапов исследования была проверена сопоставимость пациентов по ряду обозначенных параметров и проверена статистическая значимость их влияния на полученные данные. Особенно важен отбор «эталонной» группы пациентов на начальном этапе, этапе обучения модели.

В проведенном исследовании показано, что регистрация изменений липидного профиля, ассоциированных с опухолевым процессом при РЯ в виде МС-«отпечатков пальцев», и дальнейшее создание классифицирующих моделей продемонстрировали возможность различать липидный профиль здорового человека, а также больных с распространенными стадиями РЯ от пациентов с I-II стадиями заболевания, выявление которых с помощью стандартных методов диагностики сопряжено с существенными трудностями наряду с тем, что именно их лечение сопровождается более благоприятным прогнозом.

Подавляющее большинство значительно измененных соединений, выявленных в диссертационном исследовании, относится к глицерофосфолипидам, преимущественно, к фосфатидилхолинам (РС, ФХ). Аномальный липидный метаболизм этой подгруппы глицерофосфолипидов, по-видимому, непосредственно участвует в апоптозе или некрозе клеток, клеточной пролиферации, а также в передаче клеточных сигналов. Предположение об

интеграции метаболических путей, потенциально связанных с ролью метаболизма глицерофосфолипидов в канцерогенез, представлено на Рисунке 4.1.

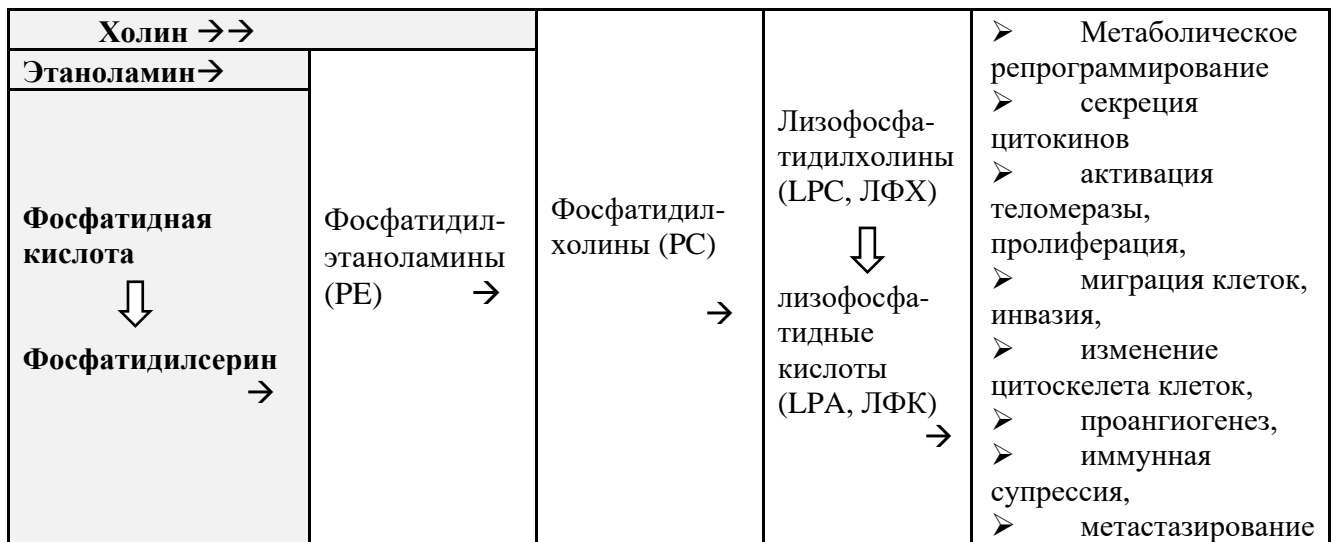


Рисунок 4.1 - Цикл Кеннеди (по S. Plewa и соавт. [251])

ФХ и фосфатидилэтанол амин (PE) синтезируются *de novo* из холина и этаноламина соответственно. Эти многоступенчатые реакции составляют одну из ветвей пути Кеннеди [168], [251] (Рисунок 4.1). Под воздействием фосфолипаз A1 и A2 в процессе дальнейшего гидролиза из ФХ образуются в лизофосфатидилхолины. Затем ЛФХ могут быть преобразованы в лизофосфатидную кислоту (ЛФК) с помощью фермента лизофосфолипазы D. ЛФК в жидкостях организма может состоять из смеси различных жирных кислот (насыщенных и ненасыщенных), и, таким образом, активируя различные рецепторы ЛФК, она выполняет различные функции в организме человека. В нашем исследовании мы наблюдали снижение сывороточных уровней в группе ФХ (Таблицы 3.31, 3.32). Предположительно это может быть результатом усиленного катаболизма ФХ. ФХ преобразуются в ЛФХ с последующим преобразованием в ЛФК, снижение последней может быть результатом сверхэкспрессии лизофосфолипазы D, который, как упоминалось ранее, является ответственным за превращение ЛФХ в ЛФК [251].

Использование полученных данных в совокупности с данными УЗИ органов малого таза и СА 125 позволит сократить спектр нозологий для дифференциально диагностического поиска, что потенциально повысит точность этапа предоперационной диагностики и планирования ведения пациента с ООВОЯ. Внедрение изучаемого метода в практическое здравоохранение позволит усовершенствовать алгоритмы обследования и ведения пациентов с серьезными ЗНО яичников.

#### 4.2.2 Анализ взаимосвязи повышения СА 125 с метаболическими изменениями при раке яичников высокой степени злокачественности

Маркер СА 125 является пептидным эпитопом циркулирующего муцина крови (MUC 16). Основная масса циркулирующих гликопротеинов быстро элиминируется гликан-распознающими рецепторами печени. Гликаны, которые избегают клиренса, могут быть изучены в качестве клинических диагностических маркеров, к ним относится хорошо изученный антиген СА 125. Данный крупный высокомолекулярный гликопротеин крови с множественными О-связанными олигосахаридами (О-гликанами), сгруппированными на белковой основе, применяется в клинической практике благодаря тому, что определяется в системном кровотоке в качестве антигена, ассоциированного с рядом воспалительных и пролиферативных процессов, в том числе с РЯ ВСЗ [1].

Постулированная О. Г. Варбургом гипотеза об изменении метаболизма, в частности гликолиза, как иницирующем звене канцерогенеза нашло отображение в одном из широко применяемых в диагностике онкологических заболеваний методе ЯМР, позитронно-эмиссионной томографии [152; 223]. Данный клинический радионуклидный метод основан на более активном и ускоренном захвате опухолевыми клетками радиофармпрепарата (глюкоза, меченная позитрон-излучающим радиоизотопом ( $^{18}\text{F}$ -фтордезоксиглюкоза,  $^{18}\text{F}$ -ФДГ), что выявляется свечением и, как следствие, обнаружением опухоли и ее вторичных очагов.

В 2011 г. Е. Garcia и соавт. было проведено контролируемое исследование, в котором методом ЯМР был исследован метаболомный профиль сыворотки крови пациентов с эпителиальными злокачественными опухолями яичников ( $n = 120$ ) и группы контроля ( $n = 132$ ) с дополнительным этапом исследования на валидирующем наборе (по 50 образцов соответственно) [74]. Авторы наблюдали значимое изменение уровней метаболитов при наличии опухолей: снижение содержания фосфолипидов, липидов низкой плотности и ненасыщенных липидов, валина, холина, соотношения креатинин/креатинин, а также повышение  $\beta$ -гидроксипутирата, ацетона и ацетоацетата (чувствительность составила 63%, специфичность - 80%, AUC = 0.79).

Целью данной части диссертационного исследования было оценить перспективы клинической интеграции определения при помощи ЯМР-спектроскопии метаболитов плазмы крови в диагностику серозного РЯ. В результате исследования было выявлено несколько статистически значимых ассоциаций между измеренными уровнями эпитопа СА 125 и концентрациями метаболитов в плазме. Результаты, отображенные на Рисунке 3.49, указывают на то, что уровень СА 125 обратно пропорционально связан с несколькими метаболитами в плазме крови. Значимые ассоциации (глюкоза, глутамин, аланин, бетаин и серин) соответствуют изменениям в системном метаболизме при распространенном РЯ ВСЗ [8]. Механизм феномена

сниженного содержания глюкозы, бетаина и аминокислот (особенно глутамина и аланина) в физиологических жидкостях пациентов с онкологическими заболеваниями остается неизученным. В качестве основного донора метильной группы в реакции превращения гомоцистеина в метионин бетаин играет значимую роль при патологиях, связанных с измененным системным метаболизмом гомоцистеина, фолиевой кислоты и витаминов группы В. Снижение уровня аланина по мере прогрессирования заболевания может быть объяснено его повышенным использованием в качестве основного глюконеогенного предшественника для удовлетворения высокого потребления глюкозы клетками опухоли. Снижение уровня глутамина может быть связано с усилением глутаминолиза, необходимого для обеспечения предшественников для синтеза нуклеиновых кислот [106], а также повышенным расходом данной аминокислоты в процессе анаплеротических реакций и синтеза в цикле трикарбоновых кислот [251].

Обратно пропорциональная связь между содержанием метанола и уровнем СА 125 при распространенных стадиях заболевания может быть объяснена особенностями питания пациентов (употребление свежих фруктов и ферментированных напитков) и изменением активности микробиоты. В нормальных условиях такие низкие или «физиологические» концентрации метанола метаболизируются в печени. Значимая отрицательная связь между СА 125 и N-оксидом триметиламина, который часто интерпретируется как специфический для микробиоты метаболит, служит дополнительным аргументом в пользу микробиотического происхождения метанола [8].

В результате проведенного исследования были установлены статистически значимые ассоциации между измеренными уровнями эпитопа СА 125 и концентрациями ряда метаболитов в плазме. Обнаруженная связь между СА 125 в плазме крови и ее метаболическим составом является первым свидетельством того, что метаболом может отражать содержание циркулирующих муцинов. Это, в свою очередь, позволяет выдвинуть гипотезу о возможности включения изученных метаболических показателей в общую оценку развития РЯ ВСЗ в дополнение к исследованию содержания СА 125, поскольку данные показатели взаимосвязаны и представляют единый системный метаболический фенотип, ассоциированный с прогрессирующим опухолевым процессом. Таким образом, изменения крупного гликана СА 125 при РЯ ВСЗ является одним из проявлений изменений метаболического профиля и ассоциированы с его биологическими свойствами, а именно способностью ускользать от быстрой рецептор-опосредованной элиминации из системного кровотока. Интеграция метаболических показателей в перечень диагностических методов, используемых при раке яичников I-IV стадий, является перспективным направлением, поскольку с момента открытия

СА 125 понимание биологии рака яичников изменилось, - опухоли классифицируются не только на основе гистологических признаков, но и на основе молекулярного фенотипа.

Следует отметить, что несмотря на установленную статистическую значимость, модели описывают только 10 - 15% дисперсии данных, что может быть объяснено размером выборки пациентов, а также неучтенными конфаундерами (особенности диеты, медикаменты) [8].

Однако рядом проведенным исследований было показано, что метаболомный состав образцов является непостоянным, в связи с влиянием ряда конфаундеров, которые необходимо учитывать на этапе отбора пациентов в исследование. Данный аргумент требует пристального внимания со стороны исследователей и может быть нивелирован посредством предварительного подробного многомерного анкетирования пациентов, в том числе учитывающего коморбидность пациентов (заболевания в первую очередь сердечно-сосудистой и мочевыделительной, а также дыхательной и пищеварительной систем), кроме того, существенные данные должны быть получены при учете пищевого рациона и потребляемых медикаментов (Таблица 4.1).

Таблица 4.1 - Преимущества и ограничения метода ЯМР

<b>Ограничения применения метода</b>	<b>Пути преодоления ограничений</b>
низкая специфичность в монорежиме	применение в тандеме с др. методами, включая омиксные технологии (маркерами, генетикой, новыми ответвлениями - радиомика, геномика, транскриптомика, текстомика)
погрешности на этапе взятия и пробоподготовки	преодолевается при наличии временного и кадрового ресурсов и технического обеспечения
влияние конфаундеров (питание, опухоли других локализаций и др.)	для МС требуется более «жесткий» отбор пациентов
неприменимость в клин практике	пока этапы остаются в рамках достижений лабораторий, публикаций и грантов, необходимо больше исследований

Метод спектроскопического ЯМР образцов крови характеризуется высокой скоростью анализа образцов в эксперименте, в связи с возможностью одномоментного анализа большого количества образцов. Устранение перечисленных конфаундеров во многом повысит степень гомогенности анализируемых выборок, снизит частоту ошибок и повысит воспроизводимость метода ЯМР.

#### **4.2.3 Сравнение спектров экзосомальных микроРНК плазмы крови при раке яичников высокой степени злокачественности и эндометриоидных кистах яичников**

Изучение экспрессии микроРНК в процессе профилирования биологических субстратов является актуальным для получения информации о дополнительных механизмах канцерогенеза

серозного рака яичников высокой степени злокачественности [155], [208], а также об эстроген-зависимой пролиферации при распространенном наружном генитальном эндометриозе [46; 257], - оба заболевания являются системными и приводят к серьезным последствиям для репродуктивного здоровья и качества жизни женщины. Эндометриоз характеризуется формированием эндометриоидной ткани вне полости матки и поражает примерно 10-24 % женщин репродуктивного возраста [1], [11], [36], [90], вызывая бесплодие и существенно ухудшая качество жизни пациентов. Эндометриоз считается доброкачественным заболеванием, тем не менее клетки эндометриоидных гетеротопий проявляют черты, сходные с онкотрансформированными клетками: нарушение регуляции пролиферации, апоптоза, миграции, способность стимулировать ангиогенез, резистентность к воздействию иммунокомпетентных клеток приводят к росту и распространению эндометриоидных очагов [158]. Очаги эндометриоза рассматриваются в качестве источника для развития эндометриоидного [43] и светлоклеточного [53] гистотипов РЯ.

Изучение экзосом является перспективным направлением молекулярной медицины в связи с входящими в их состав нуклеиновыми кислотами, белками, гликоконъюгатами, липидами и даже органеллами, - данные компоненты динамично отображают патофизиологические условия [179], участвуют в межклеточных коммуникациях [56], [93] и при этом защищены от внешнего ферментативного воздействия благодаря наличию липидного бислоя везикулярной мембраны [205]. В представленном исследовании был проведен транскриптомный анализ экспрессии циркулирующих экзосомальных микроРНК плазмы крови у больных с первично выявленным серозным РЯ высокой степени злокачественности III-IV стадий в постменопаузе и пациентов репродуктивного возраста с распространенным наружным генитальным эндометриозом III-IV стадий и эндометриоидной кистой яичников. Для поиска потенциальных маркеров изучаемых пролиферативных процессов было произведено исследование представленности микроРНК в экзосомах методом высокопроизводительного секвенирования. Полученные комбинации были сопоставлены с образцами условно здоровых добровольцев подобранных групп контроля. Основным результатом проведенного исследования являются данные о наличии специфических наборов ДЭМ, благодаря определению которых в плазме крови пациентов можно предположить наличие РЯ, ЭКЯ или отсутствие данных состояний. Было показано, что перечень микроРНК, имеющих принадлежность к различным семействам, изменен в плазме крови пациентов с РЯ и ЭКЯ по сравнению с образцами крови наблюдаемых групп контроля. Количество прочтений при секвенировании является параметром относительной представленности микроРНК в исследуемом образце. Слишком низкие значения количества прочтений существенно снижают вероятность детекции и использования в сравнительном анализе кандидатных микроРНК. Поэтому в качестве потенциальных маркеров необходимо отбирать ДЭМ с максимально

возможными количеством прочтений и кратностью изменений. На основании данных критериев был проведен отбор 11 микроРНК: в качестве маркеров РЯ были отобраны повышено экспрессированные 6 микроРНК: miR-141-3p, -199a-5p, -200b-3p, -203a-3p, -224-5p, -4488, в качестве маркеров ЭКЯ при наружном генитальном эндометриозе – повышено экспрессированные 5 микроРНК (miR-486-5p, -3184-3p, -4732-5p, -423-5p, -92b-5p) (Таблица 3.41).

В нескольких исследованиях авторами было показано, что изменение представленности микроРНК обусловлено не только конкретным заболеванием, но и степенью гормональной активности, а именно фазой менструального цикла [257] и активностью репродуктивной функции [187] у пациентов разных возрастов. Однако данные остаются противоречивыми, - в проспективном исследовании S. Moustafa и соавт., определение перечня микроРНК (miR-125b-5p, miR-150-5p, miR-342-3p, miR-451a, miR-3613-5p, let-7b) позволяет высоко точно дифференцировать образцы пациентов с легкими и тяжелыми формами эндометриоза (AUC = 0.94) вне зависимости от фазы менструального цикла и применяемых гормональных препаратов (комбинированные оральные контрацептивы, прогестерон, эстрогены, агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона, ингибиторы ароматазы и др.) [161]. N. Zafari и соавт. также были получены данные об отсутствии влияния фазы менструального цикла на степень экспрессии miR-199b-3p и miR-224-5p, тогда как изменения let-7d-3p у пациентов с эндометриозом были взаимосвязаны с фазой цикла, а у наблюдаемых группы контроля фазы цикла на экспрессию данной микроРНК не влияли [257]. Как было показано в собственных проведенных исследованиях, РЯ ВСЗ встречается у пациентов более старшего возраста (Me = 54 года), чем РЯ НСЗ, пограничные опухоли и доброкачественные образования яичников, включая эндометриоз (Me = 36 – 38 лет). Для проверки гипотезы о влиянии возрастного фактора на экспрессию микроРНК в рамках представленного исследования нами было проведено сравнение экспрессии микроРНК у здоровых добровольцев с различным статусом репродуктивного старения с учетом потенциального изменения гормональной активности в возрастном аспекте. Несмотря на то, что были получены статистически значимые различия экспрессии 26 экзосомальных микроРНК у женщин разных возрастов, сравнение экспрессии полученных, предположительно «возраст-ассоциированных», микроРНК у здоровых добровольцев и пациентов с пролиферативными процессами не обнаружило сходства, что свидетельствует об отсутствии влияния возрастного фактора на представленность данных микроРНК при РЯ и ЭКЯ. Это означает, что использование данных ДЭМ в качестве маркеров не будет приводить к ложноположительным результатам. С одной стороны, это позволяет считать применение предложенных микроРНК (Таблица 3.41) релевантным для выявления РЯ и ЭКЯ в различных возрастных группах и, в том числе, для использования в качестве маркеров при сложностях дифференциальной диагностики данных

пролиферативных процессов на распространенных стадиях, однако, учитывая ограничения проведенного пилотного исследования мы считаем, что при потенциальном использовании микроРНК возрастной фактор по-прежнему необходимо учитывать.

Полученные нами данные по некоторым маркерам сопоставлены с результатами опубликованных исследований и приведены в Таблице 4.2.

Таблица 4.2 - Изменения микроРНК, полученные в проведенном исследовании и данные опубликованных исследований

Изменение микроРНК	Данные литературы	Ссылка
<b>при РЯ</b>		
<b>-141-3p, ↑</b>	клетки опухолевой ткани при РЯ; снижение экспрессии в плазме крови при эндометриозе; повышение в экзосомах крови при преэклампсии; снижение экспрессии в экзосомах фолликулярной жидкости при синдроме поликистозных яичников	[147] [21] [177] [236]
<b>-199a-5p, ↑</b>	снижение экспрессии в плазме крови при эндометриозе; повышение экспрессии на фоне назначения пациентам с эндометриозом терапии, включающей медроксипрогестерона-ацетат, прогестерон, даназол; повышение экспрессии в экзосомах фолликулярной жидкости при синдроме поликистозных яичников	[21], [121] [39] [236]
<b>-200b-3p, ↑</b>	снижение экспрессии при раке эндометрия	[89]
<b>-203a-3p, ↑</b>	повышение экспрессии в экзосомах крови и в клетках опухоли при РЯ; снижение экспрессии в экзосомах фолликулярной жидкости при синдроме поликистозных яичников	[233] [236]
<b>-224-5p, ↑</b>	данные доступной литературы ограничены	
<b>-4488, ↑</b>	повышение в экзосомах перитонеальной жидкости ЭКЯ	[29]
<b>при ЭКЯ</b>		
<b>-486-5p, ↑</b>	повышение в экзосомах перитонеальной жидкости ЭКЯ; повышение в сыворотке крови и перитонеальной жидкости при ЭКЯ и РЯ, ассоциированном с эндометриозом; снижение экспрессии в экзосомах при раке прямой кишки особенно в условиях гипоксии и при распространенных стадиях заболевания	[29] [235] [30], [135]
<b>-92b-5p, ↑</b>	данные доступной литературы ограничены	
<b>-3184-3p, ↑</b>	повышение экспрессии в биоптатах мышечной ткани при кахексии, обусловленной течением злокачественного процесса (колоректальный рак, рак поджелудочной железы)	[184]
<b>-4732-5p, ↑</b>	повышение экспрессии в экзосомах сыворотки крови при РЯ	
<b>-423-5p, ↑</b>	повышение экспрессии в биоптатах мышечной ткани при кахексии, обусловленной течением злокачественного процесса (колоректальный рак, рак поджелудочной железы)	[219]

Согласно данным литературы, к наиболее изученным при заболеваниях яичников относятся микроРНК семейств miR-200, let-7, miR-199 [55], [139], [208], [257]. Семейство miR-200 состоит из микроРНК, кодируемых в локусах первой (miR-200a, miR-200b, miR-429) и двенадцатой (miR-200c и miR-141) хромосом [55]. Ключевой функцией считается их участие в

канцерогенезе, включая механизмы эпителиально-мезенхимального и мезенхимально-эпителиального переходов, опосредованные через воздействие на транскрипционные факторы ZEB1 и ZEB2 (Zinc finger E-box-binding homeobox), что приводит к подавлению синтеза E-кадгерина (гликопротеин клеточной адгезии и миграции) и индуцирует метастазирование [155]. В работе Q. Cao и соавт. [57] была показана прогностическая значимость определения микроРНК в тканях злокачественных эпителиальных опухолей яичников, в частности серозного рака яичников высокой степени злокачественности: повышение экспрессии miR-200a, miR-200b и miR-200c ассоциировано с сокращением общей выживаемости. Повышение экспрессии представителей данного семейства (miR-203a-3p, miR-200b-5p и miR-141-3p) было обнаружено нами в экзосомах плазмы крови, что можно интерпретировать в качестве отображения процессов, происходящих в опухолевой ткани, детектированного при помощи неинвазивного метода, в дальнейшем может быть также изучена роль данного маркера в прогнозировании выживаемости пациентов с распространенными стадиями РЯ. Что касается обнаруженного повышения miR-141-3p при РЯ, S. Masoumi-Dehghi и соавт. было показано, что miR-141-3p индуцирует активность рецептора 2 типа эндотелиального фактора роста (VEGFR-2), что интенсифицирует опухолевый ангиогенез [147]. Также при исследовании активности сигнального пути JAK-STAT3 в культурах клеток РЯ авторами было показано, что секретируемые опухолью экзосомальные микроРНК miR-141-3p, выступая в качестве важных посредников межклеточной коммуникации, подавляют активность цитокин-индуцируемых супрессоров (SOCS5), что приводит к стимуляции активности JAK-STAT3 (The Janus kinase/signal transducer and activator of transcription) в эндотелиальных клетках. Нами были получены данные о повышении экспрессии miR-203a-3p ( $p_{adj} = 0.011$ ) при распространенных стадиях серозного РЯ, - аналогичные данные были опубликованы D. Taylor и соавт. в 2008 г. [233], - авторы также показали эквивалентные изменения в экзосомах плазмы крови и непосредственно в клетках опухоли. Полученные изменения экспрессии данной микроРНК могут быть объяснены механизмами эпигенетической регуляции, в том числе гипометилированием.

N. Nakamura и соавт. была показана роль miR-486-5p в индукции пролиферации при ЭКЯ и РЯ, ассоциированном с ЭКЯ [235]. Авторами было показано повышение экспрессии данной микроРНК в сыворотке крови и перитонеальной жидкости при РЯ, чем при эндометриоидных кистах. Авторами также была отмечена корреляция экспрессии микроРНК и степени распространения ЭКЯ, в связи с чем N. Nakamura и соавт. предлагают использовать определение экспрессии miR-486-5p в качестве маркера тяжести течения эндометриоза, что подтверждает воспроизводимость полученных нами данных (miR-486-5p отобран нами как маркер распространенного эндометриоза с кистой яичников,  $p_{adj} = 0,025$ ).

Наряду с сопоставимыми данными нами были получены результаты, не опубликованные ранее при изученных нозологиях (Таблица 4.2) или отличающиеся от опубликованных ранее данных. Ранее J. Liu и соавторами было показано, что при дифференцировке образцов крови пациентов с РЯ от образцов пациентов группы контроля определение miR-4732-5p в плазме характеризуется 85,7% чувствительностью и 82,4% специфичностью (AUC = 0,889,  $p < 0.0001$ ) [184]. Также авторами было показано, что данная микроРНК является информативным маркером для мониторинга пациентов с ранними стадиями для выявления прогрессирования заболевания ( $p = 0,018$ ). В отличие от упомянутого исследования нами не было обнаружено статистически значимого изменения miR-4732-5p у пациентов с серозным РЯ по сравнению с пациентами с ЭКЯ и наблюдаемыми женщинами группы контроля. Следует отметить, что изменения данной микроРНК нами были отмечены при ЭКЯ, - у пациентов наблюдалось повышение ее экспрессии по сравнению с наблюдаемыми женщинами группы контроля ( $p_{adj} = 0,015$ ).

Для более углубленного изучения биологической роли выявленных экзосомальных микроРНК, дифференциально экспрессированных при РЯ и ЭКЯ, нами был проведен анализ регуляторной функции потенциальных 1288 мишеней в нескольких сигнальных путях, наиболее вероятно задействованных в патогенезе и дифференцировке изучаемых пролиферативных процессов. На основании выявленных наиболее значимо дифференциально экспрессированных при РЯ и ЭКЯ экзосомальных микроРНК были идентифицированы гены-мишени нескольких сигнальных путей: *AKT1*, *ATM*, *BARD1*, *BAX*, *BCL2*, *BRCA1*, *CASP3*, *CDK4*, *CHEK1*, *CHEK2*, *JAK1*, *MDM2*, *PLK1*, *PTEN*, *RB1*, *SMAD2*, *SMAD3*, *TP53*. Среди перечисленных генов, супрессоры опухолевого роста *PTEN* и *BRCA1* являются факторами канцерогенеза РЯ, а также возможными факторами гиперплазии и трансформации очагов эндометриоза в эндометриодный рак яичников [97]. Подробно механизмы регуляции изложены в ряде работ, в частности в обзоре 2021 г. А. Gajek и соавт. [98], а также в оригинальных исследованиях [5; 13]. Функциональная кластеризация обозначенных генов-мишеней показала их участие в процессах регуляции клеточного цикла, сигнальных путей факторов роста, апоптоза и репарации ДНК, что может служить подтверждением их специфичности для патогенетических процессов, ассоциированных с исследуемыми пролиферативными патологиями яичников. Было установлено сходство анализируемых групп по активации нескольких сигнальных путей, - многочисленные взаимосвязи между выявленными генами-мишенями микроРНК указывают на их существенный вклад и совместную вовлеченность в процессы пролиферативной активности при РЯ и ЭКЯ.

Таким образом, благодаря стабильности экзосом плазмы крови изучение микроРНК, входящих в их состав, является перспективным направлением поиска маркеров пролиферативных процессов. Наличие дифференциально экспрессированных микроРНК в экзосомах плазмы крови свидетельствует о специфических изменениях при РЯ и ЭКЯ. В

качестве маркерных для РЯ и ЭКЯ были выбраны следующие ДЭМ: miR-141-3p, -199a-5p, -200b-3p, -203a-3p, -224-5p, -4488 (повышены при РЯ), miR-486-5p, -3184-3p, -4732-5p, -423-5p, -92b-5p (повышены при ЭКЯ).

Рассмотрение возможного участия в сигнальных путях экзосомальных микроРНК, отобранных на первом этапе исследования, позволило назвать их кандидатами в маркеры благодаря полученной специфичности. Возможность создания классифицирующего кластера подтверждает перспективность применения жидкостной биопсии для исследования маркерного потенциала экзосомальных микроРНК.

### **4.3 Предикция исходов лечения пациентов с серозным раком яичников высокой степени злокачественности на основании данных предоперационной диагностики**

#### **4.3.1 Оценка предикторной ценности клинических методов предоперационной диагностики и выбор лечебной тактики при распространенном раке яичников**

Был проведен ретроспективный анализ периоперационных исходов и выживаемости пациентов после комбинированного лечения распространенного рака яичников. Для этого было исследовано возможное влияние различных клинических и лабораторных факторов на изучаемые исходы в двух сформированных группах, состоящих из пациентов после первичной или интервальной циторедукции, сопоставимых по частоте выполнения операции без остаточной опухоли или с проявлениями опухолевого процесса размерами до 10 мм.

Выбор в пользу тактики, включающей проведение хирургического или химиотерапевтического метода на первом этапе лечения при распространенном РЯ, — это не только разная очерёдность проведения, но и исходно различные группы пациентов по степени распространенности опухолевого процесса, по возрасту и отягощенности соматического статуса. Аргументированным является подход, основанный на комплексной оценке не только данных методов объективной диагностики (УЗИ, КТ и МРТ, выполненные врачами-экспертами), но и соматического статуса пациента (индекс Чарльсон, физический статус по шкале ASA, ПНИ, содержание альбумина). Коморбидность (наличие или отсутствие сопутствующих заболеваний пациента) определяет дальнейший прогноз и риски, которые должны быть рассчитаны в соответствии с валидизированными шкалами и индексами. Восточной Объединенной Онкологической Группой (*ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group*), Группой Онкологической Гинекологии (*GOG, Gynaecologic Oncology Group*) были валидизированы шкалы, которые используются наряду с разработанными десятилетия назад шкалой Карновского и индексом Чарльсон (*Charlson Comorbidity Index*), который признан высоко информативным предикторным показателем 10-летней выживаемости [62]. В проведенном исследовании не было

показано значимых различий данного индекса в группах, а также его прогностической значимости в предикции периоперационных исходов и показателей ВБП.

Было показано, что пациенты, которым первым этапом проведена НАХТ, старше, имеют более выраженный объем асцита, а также исходно более повышенный уровень СА 125 крови (Таблица 3.45). Также было показано, что ПЦРО сопровождается более длительным течением операции ( $240 \pm 77$  мин по сравнению с  $195 \pm 62$  мин,  $p=0,019$ ), а значит и наркоза ( $240 \pm 77$  мин по сравнению с  $195 \pm 62$  мин,  $p=0,019$ ), сопряжена с увеличением объема кровопотери (450 мл по сравнению с 300 мл,  $p=0,164$ ) и риском послеоперационных осложнений (100% осложнений, потребовавших хирургического вмешательства были отмечены после ПЦРО), что суммарно представляет высокий риск для коморбидных пациентов, в связи с чем они не являются оптимальными кандидатами для выполнения ЦРО в момент постановки диагноза. Как нами было показано, каждая выбранная тактика сопровождается различными исходами. У пациентов после лечения, включавшего первичную ЦРО наблюдается более длительная ВБП, по сравнению с пациентами, лечение которых было начато с химиотерапии ( $32 \pm 11,21$  мес. и  $14 \pm 3,34$  мес.). Из вышеперечисленного следует, что шанс на получение первым этапом хирургического лечения должен быть максимально реализован с учетом только значимых факторов риска осложнений. Это свидетельствует о важности объективной оценки статуса пациента на этапе планирования и выбора тактики, - решение должно быть аргументировано наиболее прогностически значимыми данными клинической и инструментально-лабораторной диагностики. В связи с противоречивыми и субъективными данными выбор в пользу одного из методов первичного лечения должен быть объективно обоснован. Факторы, влияющие на принятие решения о проведении пациенту первым этапом НАХТ или ПЦРО, можно подразделить на две группы: факторы со стороны пациента (возраст, коморбидность, уровень альбумина, наличие и выраженность кахексии) и факторы, указывающие на степень распространенности опухолевого процесса (стадия заболевания, размеры опухоли, наличие отдаленных метастазов, инвазия стенок таза, вовлечение тонкой кишки и корня брыжейки на большом протяжении, вовлечение лимфоузлов выше чревного ствола, наличие множественных внутрипаренхиматозных метастазов в печени или перитонеальных узлов вблизи печеночной вены или воротной вены, вовлечение тонкой кишки и корня брыжейки на большом протяжении) [165], [226]. На основании проведенного анализа нами было показано, что выполнение на первом этапе НАХТ прогнозируемо у пациентов старше 57,5 лет, с уровнем СА 125 выше 618,5 Ед/мл и объемом асцита более 225 мл. Противоречивость полученных данных побуждает продолжать поиск более объективных предикторов для выбора первого этапа лечения.

Полная циторедукция с удалением всех макроскопических проявлений заболевания должна являться основной целью лечения больных раком яичников, в том числе при

диссеминации опухолевого процесса. Биологическое объяснение данного стремления заключается в повышении эффективности химиотерапевтического лечения за счет улучшения биодоступности препаратов, доставленных к опухолевым клеткам редуцированной до микроскопических размеров опухолевой ткани, - ранее было показано, что проникающая способность химиотерапевтических агентов составляет 1-2 мм [183]. Одним из наиболее крупных исследований, посвященных изучению влияния остаточной опухоли на показатели выживаемости пациентов после комбинированного лечения РЯ ПБ-IV стадий, является мета-анализ трех проспективных рандомизированных исследований (AGO-OVAR 3, 5 и 7), суммарно включивший 3126 пациентов, которым была выполнена полная, оптимальная или неоптимальная ПЦРО [206]. A. du Bois и соавт. было показано, что ВБП пациентов после ПЦРО составила 18,2 (95% ДИ: 17,3-19,1) мес., ВБП после полной циторедукции составила 15,5 мес., после оптимальной – 10,1 мес. и после неоптимальной ЦРО – 7,8 мес. ( $p < 0,0001$ ). Нами было показано, что выполнение операции без остаточной опухоли сопровождается более длительной безрецидивной выживаемостью пациентов после комбинированного лечения (32 мес. после ПЦРО без остаточной опухоли по сравнению с 22 мес. после ПЦРО, выполненной с остаточной опухолью размерами менее 1 см, и 12 мес. после ПЦРО, выполненной с остаточной опухолью размерами более 1 см). Следует отдельно отметить, что лечение пациентов, включенных в мета-анализ A. du Bois и соавт. проводилось в 1995-2002 гг. С тех пор хирургическая тактика во многом претерпела изменения, в первую очередь за счет расширения зон хирургической активности. Ранее этому было посвящено исследование, выполненное Chi D. и соавт. в MSKCC (Memorial Sloan Kettering Cancer Center) [108]. Опыт увеличения частоты вмешательств на ободочной кишке (до 35% по сравнению с 6% ранее), а также выполнение хирургических этапов на органах верхнего этажа брюшной полости у 38% пациентов с ПС-IV стадиями РЯ был ассоциирован с увеличением частоты достижения полной и оптимальной циторедукций (80% по сравнению с 46%,  $p < 0,01$ ) и с значимым улучшением показателей выживаемости пациентов (5ти летняя ВБП увеличилась до 31% по сравнению с 14%, ОВ возросла до 47% по сравнению с 35%). Пациентам, включенным в проведенное нами исследование, при наличии показаний были выполнены все необходимые этапы для элиминации опухоли (стриппинг или резекция куполов диафрагмы, спленэктомия, резекция печени, резекция отделов кишечника, и т.д.). После достижения плато кривой обучения в 2017 г. данный объем в нашем учреждении является «стандартной» хирургической практикой. При расширении объема вмешательства следует ожидать повышения риска определенных последствий таких как увеличение длительности операции (соответственно и времени наркоза), объема кровопотери, повышение частоты инфекционных осложнений и времени пребывания в стационаре [108]. В связи с весомостью данного аргумента до начала лечения требуется предварительная тщательная оценка как

распространения опухолевого процесса, так и соматического статуса пациента совместно с врачом-анестезиологом-реаниматологом. Нами также было показано (Таблица 3.45), что ПЦРО сопровождается более длительным течением операции ( $240 \pm 77$  мин по сравнению с  $195 \pm 62$  мин,  $p=0,019$ ), сопряжена с увеличением объема кровопотери (450 мл по сравнению с 300 мл,  $p=0,164$ ) и риском послеоперационных осложнений (100% осложнений, потребовавших хирургического вмешательства были отмечены после ПЦРО), что суммарно представляет более высокий риск для коморбидных пациентов, в связи с чем они не являются оптимальными кандидатами для выполнения ЦРО в момент постановки диагноза.

Данные рандомизированных контролируемых исследований, посвященных сравнению различных методик лечения распространенного РЯ (JCOG0602 (The Japan Clinical Oncology Group) [210], SCORPION (Surgical COmplications Related to Primary or Interval debulking in Ovarian Neoplasm) [201], и др.), свидетельствуют о сопоставимой длительности ВВП и ОВ пациентов наряду со значительным снижением послеоперационных осложнений после ИЦРО по сравнению с ПЦРО. Нами было показано, что частота рецидива заболевания после ИЦРО и ПЦРО была сопоставимой (75% и 59,26%), однако, сроки рецидива статистически значимо различались. Длительность ВВП после ИЦРО, выполненной даже без остаточной опухоли (14 мес.), значимо менее продолжительная, чем ВВП после ПЦРО, выполненной с остаточными проявлениями опухолевого процесса до 1 см (22 мес.), и сопоставима с длительностью ВВП после неоптимальной ПЦРО (12 мес.). Данный результат, а именно сокращение ВВП после НАХТ, проведенной на первом этапе лечения, свидетельствует о том, что данная тактика практически нивелирует хирургические усилия, которые были применены для достижения полной ИЦРО. Снижение хирургической активности в процессе ИЦРО связано с патоморфозом, при котором регресс опухолевых очагов приводит к минимизации объёма вмешательства (сохранение брюшины или удаление брюшины определенной области вместо тотальной перитонэктомии, в связи с её гладкостью и визуальной интактностью, а также сохранение органа или его части в связи с отсутствием канцероматоза и метастатического поражения). Предположительным фактором сокращения ВВП после НАХТ является микроскопический пул резистентных опухолевых клеток, оставленный после ИЦРО в связи со сложностями их идентификации на фоне патоморфоза опухоли (очаг уменьшился, перестал быть видимым глазу, у хирурга нет показаний к удалению визуально неизмененных тканей, а значит клетки остаются и являются субстратом неизбежного более раннего рецидива). Данный вывод в очередной раз подчеркивает актуальность объективизации противопоказаний для проведения хирургического лечения в качестве первого этапа лечения распространенного РЯ.

На сегодняшний день наиболее весомыми аргументами в пользу проведения первым этапом химиотерапевтического лечения считаются критерии, прямо или косвенно

отображающие соматический статус пациента (в том числе, пациенты более старшего возраста, наличие сопутствующих заболеваний, отягощающих анамнез, сниженный уровень альбумина в крови, кахексия, и т.д.) и степень распространения опухолевого процесса (индекс перитонеального канцероматоза, объем асцита, и т.д.). Факторы, влияющие на принятие решения о проведении пациенту первым этапом НАХТ, можно подразделить на две группы: факторы со стороны пациента (возраст, коморбидность, уровень альбумина, наличие и выраженность кахексии) и факторы, указывающие на степень распространенности опухолевого процесса (стадия заболевания, размеры опухоли, наличие отдаленных метастазов, инвазия стенок таза, вовлечение тонкой кишки и корня брыжейки на большом протяжении, вовлечение лимфоузлов выше чревного ствола, наличие множественных внутрипаренхиматозных метастазов в печени или перитонеальных узлов вблизи печеночной вены или воротной вены, вовлечение тонкой кишки и корня брыжейки на большом протяжении) [165], [226]. Несмотря на значимые различия ряда факторов в исследуемых группах (возраст, ПНИ, объем асцита, ИПК, ПНИ, СА 125) при статистическом анализе нами не было показано влияния данных показателей, которые обладают какой-либо прогностической значимостью по данным литературы на длительность ВБП. О прогностической значимости изученных маркерах можно упомянуть только в контексте полученной взаимосвязи данных показателей с интраоперационными и послеоперационными исходами. На основании проведенного анализа нами было показано, что выполнение на первом этапе НАХТ прогнозируемо у пациентов старше 57,5 лет, с уровнем СА 125 выше 618,5 Ед/мл и объемом асцита более 225 мл. Противоречивость полученных данных побуждает продолжать поиск более объективных предикторов.

Проведен анализ прогностической ценности ПНИ, который рекомендован американской ассоциацией NCCN для ранжирования пациентов в соответствии с их нутритивным статусом как отображением общесоматического благополучия. ПНИ предложен Т. Onodera и соавт. в 1984 году в первую очередь для предикции осложнений в послеоперационном периоде [197]. Индекс рассчитывается на основании содержания в сыворотке крови альбумина и лимфоцитов в соответствии с формулой:  $10 \times \text{альбумин сыворотки крови (г/дл)} + 0.005 \times \text{лимфоциты (абсолютное значение, мм}^3\text{)}$ . При менее благоприятных значениях ПНИ вероятность выполнения полной и оптимальной ЦРО ниже, риск периоперационных осложнений выше, в связи с чем пациентам показано проведение НАХТ в качестве первого этапа лечения [70], [170], [238], [197]. Нами было показано, что снижение ПНИ сопряжено с увеличением времени ПЦРО, объема интраоперационной кровопотери при ПЦРО и ИЦРО, а также продлением послеоперационного пребывания в стационаре пациентов после ИЦРО. Также было показано, что на изменение ПНИ в свою очередь оказывает влияние увеличение объема асцита: при увеличении на 1 мл следует ожидать снижение ПНИ на 0,002 ( $p=0,028$ , метод линейной регрессии), что может косвенно

указывать на потерю белкового компонента кровеносного русла при образовании асцитической жидкости. Образование экссудата при опухолевом процессе, в частности сопровождаемом перитонеальным канцероматозом, характеризуется высоким содержанием белка и снижением альбумина в сыворотке крови [37]. Данные процессы являются следствием компрессии лимфатических коллекторов, изменения клеточного состава и профиля метаболитов, везикул, факторов роста, цитокинов и прочих высокомолекулярных компонентов, а также следствием повышенной порозности перитонеальной мембраны и капилляров, ассоциированной с образованием опухолью сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF) и снижением внутрипросветного онкотического давления, - перечисленные патогенетические механизмы потенцируются при таких проявлениях коморбидности как почечная, печеночная или сердечная недостаточность в связи с изменением соотношения электролитов, в частности натрия. Гипоальбуминемия патогенетически взаимосвязана с образованием не только асцита, но также и плеврального и перикардального выпотов [197]. Снижение ПНИ, как и образование асцита при перитонеальной диссеминации, является одним из прогностически неблагоприятных факторов течения РЯ. Аналогичные данные об обратной пропорциональной взаимосвязи объема асцитической жидкости и уровнем ПНИ были представлены N. Komura и соавт. [197]. Также нами была показана прогностическая ценность учета ПНИ при планировании ПЦРО, поскольку было установлено, что ПНИ равный 27,86 и более сопровождается повышением вероятности выполнения ПЦРО без остаточной опухоли у пациентов с распространенным РЯ.

Как было сказано выше, ПНИ рекомендован ассоциацией NCCN для ранжирования пациентов в соответствии с соматическим статусом [70], [170], [197], [238], однако, согласно рекомендациям Европейского общества гинекологов-онкологов, всем пациентам, которым планируется циторедуктивная операция, на предоперационном этапе показана стратификация рисков возможных осложнений (V, A), а также оценка прогностически значимых показателей. В рекомендациях указано, что уровень альбумина не должен рассматриваться в качестве критериев отбора пациентов для проведения оперативного вмешательства, но должен учитываться для своевременного восполнения на периоперационном этапе ведения пациентов (III, B) [85].

В отличие от данных N. Komura и соавт. [197] у пациентов проведенного нами исследования ПНИ перед ПЦРО был ниже, чем у пациентов перед ИЦРО. Это свидетельствует о том, что несмотря на доступность его расчета в проспективном режиме на данный показатель на этапе принятия решения о первом варианте лечения мы не ориентировались в отличие от широко внедренных в клиническую практику показателей (СА 125, объем асцита, определенный при помощи ультразвукового исследования, компьютерной томографии или магнитно-резонансной томографии) и возраста пациента. Следует отметить, что значения ПНИ в исследуемой нами выборке пациентов ниже, чем описанные в ряде опубликованных исследований (для сравнения:

пороговые значения в нашем исследовании составило 27,86, в опубликованных исследованиях – 42,9 – 47,2) [190], [196], [197], однако, сопоставимы с значениями, представленными в работе D. Dai и соавт. [213]. Данные различия могут быть объяснены различием этнической принадлежности пациентов, а также референсных значений альбумина, принятых в лабораториях разных стран (в РФ: 35–50 г/л), что следует учитывать при интерпретации данных.

Диссеминация РЯ происходит имплантационным, гематогенным и лимфогенным путями. В связи с чем рассматриваются вопросы перитонэктомии, удаления вторичных очагов из паренхиматозных органов, а также выполнение лимфаденэктомии. Наиболее часто при РЯ встречается метастатическое поражение тазовой и висцеральной брюшины. Характерно поражение печеночной и диафрагмальной брюшины, а также распространение на плевру. Локорегиональное метастазирование овариального рака по брюшине является аргументом онкологической целесообразности выполнения перитонэктомии для улучшения показателей выживаемости пациентов с перитонеальной диссеминацией [227]. ИПК был разработан в 1996 г. P. H. Sugarbaker и соавт. для стандартизации и количественной оценки площади поражения брюшины [54]. Кроме того, ИПК является предиктором достижения полной циторедуктивной операции [138] и одним из наиболее точных инструментов при выборе ПЦРО или НАХТ + ИЦРО [62]. В результате диссертационного исследования не было установлено статистически значимого влияния ИПК перед ПЦРО и ИЦРО на длительность ВБП пациентов.

При лимфогенном метастазировании наблюдается поражение лимфатических узлов по пути лимфатического оттока от яичников и фаллопиевых труб – вдоль широкой, воронко-тазовой и круглой связок матки в регионарные ЛУ (общие и наружные подвздошные, гипогастральные, латеральные крестцовые, парааортальные, паховые). В связи с особенностями строения лимфатической системы в некоторых случаях отмечается поражение над уровнем диафрагмы, - через диафрагмальные лимфатические протоки опухолевые клетки достигают главного венозного протока [47]. По данным проспективного рандомизированного исследования LION [24], системная лимфаденэктомия неизмененных по данным пред- и интраоперационной диагностики ЛУ ассоциирована с повышенным риском послеоперационных осложнений, в т.ч. потребовавших релапаротомии (12.4% против 6.5% [P=0.01]), повышением 60-дневной послеоперационной смертности (3.1% против 0.9% [P=0.049]) при отсутствии улучшения показателей выживаемости пациентов с IIВ-IV стадиями после системной тазовой и парааортальной ЛАЭ в процессе полной ЦРО. В связи с изложенным, выполнение системной ЛАЭ не рекомендовано. По полученным в проведенном диссертационном исследовании данным, выполнение ЛАЭ у пациентов сопряжено с противоречивыми результатами: с одной стороны, получено статистически значимое расхождение интраоперационных данных о наличии метастазов в ЛУ и данных гистологического исследования ЛУ, удаленных при ПЦРО (p<0,001),

что может свидетельствовать об излишней хирургической активности. Сложностью на данном этапе является объективизация выявления метастатически пораженных ЛУ на предверификационном (пред- и интраоперационном) этапе, поскольку точность визуальных методов (МРТ, КТ), а также осмотра и пальпации ЛУ непосредственно во время операции ограничена. С другой стороны, была получена значимая взаимосвязь между удалением метастатически пораженных ЛУ и вероятностью достижения полной ПЦРО ( $p = 0,044$ , точный критерий Фишера, ОШ = 0,194; 95% ДИ: 0,045 – 0,84), что обусловлено единством принципа "Видишь опухоль - удали". Также при проведении корреляционного анализа было показано, было показано, что удаление в процессе ПЦРО или ИЦРО ЛУ коррелировало с выявлением метастатически пораженных ЛУ ( $p < 0,001$  и  $p < 0,001$ , соответственно), что свидетельствует о том, что ЛАЭ у исследуемых пациентов является онкологически обоснованным этапом.

К ограничениям исследования относится ретроспективный дизайн проведенного нерандомизированного одноцентрового исследования, проведенного на сравнительно небольшой выборке пациентов, средний возраст которых составил  $55 \pm 10$  лет (36-79 лет, 95% ДИ: 52-57 лет). Среди включенных в исследование было всего 6 пациентов, операция у которых была бы выполнена с остаточной опухолью более 1 см (неоптимальная ЦРО).

Из вышеперечисленного следует, что шанс на получение первым этапом хирургического лечения должен быть максимально реализован с учетом только значимых факторов риска осложнений, а направление пациента на НАХТ должно быть аргументированным наиболее прогностически значимыми данными клинической и инструментально-лабораторной диагностики, поскольку данная тактика сопровождается значительно менее благоприятным прогнозом длительности безрецидивной выживаемости пациентов с распространенным РЯ. В связи с противоречивыми и субъективными данными выбор в пользу одного из методов первичного лечения должен быть объективно обоснован. Нами была показана ценность ПНИ в предоперационном прогнозировании выполнения ПЦРО без остаточной опухоли. Требуется проведение дальнейших исследований применения данного индекса также для предоперационного ранжирования рисков при выборе первого этапа лечения пациентов с распространенными стадиями РЯ, а также для предикции ВБП после окончания комбинированного лечения. В связи с ограниченным количеством исследований при перечисленных перспективных точках клинического применения ПНИ требуется дальнейшее изучение данного способа оценки нутритивного благополучия пациентов перед выполнением лечения, требующего физических ресурсов пациента [70], [190], [196],[197], [213], [238].

#### 4.3.2 Анализ возможности прогнозирования исходов лечения пациентов по изменению липидного профиля крови

Особенного внимания в инновационных диагностических системах заслуживают единицы комплексной оценки метаболических процессов (маркеры, липиды и молекулы окисления в крови, перитонеальной жидкости и тканях опухоли), отображающие опухоль-ассоциированные изменения, клиническое значение которых заключается не только в диагностической, но и предикторной ценности при выборе комплексного лечения пациентов с злокачественными новообразованиями яичников. Масс-спектрометрический анализ липидного профиля плазмы крови позволяет выявить изменения, характерные как для заболевания до начала специального лечения, так и после него, то есть в процессе мониторинга эффективности проводимого лечения. Контроль над процессом лечения заключается в мониторинге липидного состава плазмы крови, который возвращается к нормальному состоянию в случае реконвалесценции, либо продолжает изменяться в результате неэффективности проводимой терапии и дальнейшего развития заболевания. В данной части исследования были проанализированы возможности метода в дифференциальной диагностике различных образований яичников, а также раннем выявлении и предикции клинических исходов комбинированного лечения РЯ ВСЗ.

Поскольку 25% всех случаев сопровождается резистентностью к лечению препаратами платины, отмечается высокий риск рецидивирования и прогрессирования [14]. ВЭЖХ-МС анализ липидного профиля крови пригоден не только для диагностики заболеваний [13], но и позволяет осуществлять мониторинг эффективности проводимого лечения [9], а также на предоперационном этапе прогнозировать исходы химиотерапевтического лечения РЯ [23] и риски рецидива заболевания.

Данная часть исследования была проведена с целью изучить изменения липидного профиля сыворотки крови пациентов с РЯ ВСЗ. Предположение о возможности выявить предикторы неблагоприятного исхода при РЯ ВСЗ было изучено на примере пациентов, получивших комбинированное лечение и проходивших наблюдение в НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова в 12 и более мес. после окончания комбинированного лечения. Несмотря на отсутствие значимых различий при проведении OPLS-анализа были получены данные о значимом изменении нескольких липидов при рецидиве заболевания: было показано, что производные лизофосфатидилхолинов (22:2) и глицерофосфолипидов PEtOH 20:1\_20:1 – предикторы неблагоприятного онкологического исхода, их повышение в сыворотке крови до лечения ассоциировано с ранними ( $\leq 12$  мес.) рецидивами.

У 11 пациентов из 35 (31,43%), у которых наступил рецидив, было отмечено отсутствие чувствительности к платиносодержащей химиотерапии. При отсутствии чувствительности к проводимой платиносодержащей химиотерапии было отмечено повышение HexCer-NS

d18:1/22:0, PC20:3\_22:3, Plasmanyl-PC (O-22:0/20:4; O-24:0/20:5; P-20:0/18:2; P-20:0/20:4; P-22:0/20:4; P-22:1/18:2; P-22:1/20:4), SM (d18:1/20:0; d18:1/24:0; d20:0/18:2), ОхРС 18:1\_16:1, а также снижение TG (8:0\_8:0\_8:0; 16:0\_16:0\_18:1; 16:0\_18:0\_18:4) в плазме крови пациентов до начала лечения. В связи с повышенным риском резистентности к платиносодержащей терапии у данных пациентов им может быть предложен более тщательный мониторинг для своевременного выявления рецидива заболевания или пересмотр исходных схем проводимой терапии.

Было показано, что производные лизофосфатидилхолина, а именно окисленная форма лизофосфатидилхолина ОхLPC 22:2, и глицерофосфолипида PEtOH 20:1\_20:1, являются предикторами неблагоприятного онкологического исхода, - их повышение в сыворотке крови до лечения ассоциировано с рецидивами в срок  $\leq 12$  мес. Повышение в плазме крови пациентов до начала терапии CE 18:2, PC (16:0\_20:1; 16:0\_20:5; 18:0\_18:2; 18:0\_20:5; 18:3\_20:5), PE 18:0\_20:5, Plasmanyl-PC (O-16:0/16:0; O-18:0/18:1; O-18:1/16:0; O-24:1/20:5; P-16:0/18:1; P-20:0/20:4; P-22:0/20:4; P-22:1/20:4; P-24:1/20:5), SM (d18:1/20:0; d20:0/16:0) и MGDG 16:0\_20:3, а также снижение TG (8:0\_8:0\_8:0; 10:0\_8:0\_8:0; 16:0\_18:0\_18:4; 16:1\_18:2\_22:6; 18:1\_18:1\_18:2; 18:1\_18:3\_18:4) ассоциированы с наступлением рецидива заболевания в течение 12-24 мес. Также среди наиболее значимых предикторов наступления рецидива заболевания в течение 12 мес. наблюдения был отобран TG 18:0\_18:1\_18:2 (чувствительность и специфичность составили 99% и 71%, соответственно), в течение 18 мес. - Plasmenyl-PE P-16:0/22:6 (чувствительность и специфичность 70% и 90%, соответственно, - повышение данных липидов в крови пациентов до начала комбинированного лечения ассоциировано с рецидивом заболевания в течение 12-18 мес. наблюдения. Среди наиболее значимых предикторов более длительной ВВП были отобраны PEtOH 16:0\_22:0 и TG 18:1\_18:3\_18:4, изменения которых в крови до начала лечения ассоциированы с отсутствием рецидива заболевания спустя 42 мес. наблюдения (чувствительность и специфичность 99% и 99%, соответственно).

Повышение в плазме крови пациентов после НАХТ LPC (18:1; 20:4), LPE 18:0; 20:4), ОхCL (16:0\_18:2\_20:4; 2\_22:6), PI 18:0\_20:4; 18:1\_20:4, MGDG 16:0\_20:0, ОхLPC 18:3, ОхРС 18:2\_14:1, ОхTG 16:0\_18:1\_16:1, PC (16:0\_16:0; 16:0\_18:3), а также снижение Plasmanyl-PC (O-22:0/18:2; P-16:0/16:0), PC (16:0\_16:0; 16:0\_16:1; 16:0\_18:2; 16:0\_18:3; 16:0\_20:2; 18:2\_20:3), PE 16:0\_22:6, PS 16:0\_20:3, TG (12:0\_18:2\_18:2; 18:1\_18:1\_20:5) ассоциированы с наступлением рецидива заболевания в течение 12-36 мес. Снижение Plasmenyl-PC P-24:1/20:5 ассоциировано с риском рецидива в течение 12 (AUC=0,96, чувствительность 80%, специфичность 99%) - 18 (AUC=0,90, чувствительность 90%, специфичность 99%) мес. В дальнейшем планируется изучение биомаркерной ценности перечисленных липидов в мониторинге прогрессирования и рецидива заболевания.

Чтобы исключить конфаундерное воздействие эффекта элиминации опухолевой ткани и проведенной химиотерапии было проведено сравнение изменений липидного профиля после химиотерапевтического лечения (после 3 - 4 курсов НАХТ), после оперативного этапа и при возникновении рецидива заболевания после окончания комбинированного лечения. Было установлено значимое различие липидного профиля при попарном сравнении изменений липидного профиля при 3 клинических ситуациях. Ограничениями данного сравнения являются следующие факторы: изучение изменений липидного профиля проведено после 3 – 4 курсов НАХТ при сохраняющейся опухоли, изменения липидного профиля после операции оценивались в ранние сроки (3-6 мес.), что может быть не достаточным временным интервалом для значимого изменения системного метаболизма липидов.

Взаимосвязь различий исходного липидного профиля крови и ВБП пациентов после комбинированного лечения (первичной и интервальной циторедуктивной операции и платиносодержащей химиотерапии) подтверждает прогностическую ценность исследования липидного профиля крови методом ВЭЖХ-МС на этапе определения лечебно-диагностической тактики. Во-первых, установленные различия важны для выбора очередности проведения химиотерапевтического и хирургического этапов. Во-вторых, обнаруженные факторы менее благоприятных онкологических исходов требуют дальнейшего изучения новых методов лечения и коррекции сроков наблюдения за пациентами, у которых повышен риск резистентности к платиносодержащей терапии. Возможность прогнозирования клинического исхода проводимого лечения на основании изменений липидного профиля сыворотки или плазмы крови, обнаруженного до начала лечения, является перспективной задачей и требует проведения дополнительных исследований в будущем.

### **Резюме**

Таким образом, в диссертационном исследовании получены два основных результата:

1) Установлена дифференциально-диагностическая точность клинико-лабораторных методов обследования пациентов с ООВОЯ, а также изучены изменения липидного профиля, соотношения аминокислот и спектра экзосомальных микроРНК при ряде изученных ООВОЯ.

2) Выявлена возможность прогнозирования менее благоприятных онкологических исходов комбинированного лечения пациентов с распространенными стадиями РЯ ВСЗ (отсутствие чувствительности к платиносодержащей химиотерапии и менее длительный срок выживаемости без признаков прогрессирования) на основании различия липидных профилей крови.

## ВЫВОДЫ

1. Клиническое течение опухолей и опухолевидных образований яичников в 21,17% бессимптомно, в том числе у 50% пациентов с I-II стадиями РЯ ВСЗ и у 27,59% пациентов с III-IV стадиями РЯ ВСЗ. Диагностическая точность маркеров для выявления РЯ НСЗ (специфичность 30,58%), пограничных опухолей (чувствительность и специфичность СА 125 - 53,33% и 25%) и I-II стадий РЯ ВСЗ (специфичность СА 125 - 29,72%) ограничена. Повышение диагностической точности маркеров при РЯ ВСЗ достигнуто при совместном определении СА 125 и трансферрина крови. Расчет показателей модели ADNEX статистически значимо повышает диагностическую точность метода эхографической визуализации в изученных группах за исключением пациентов с ЭКЯ и зрелой тератомой.
2. Определение липидных профилей крови методом ВЭЖХ-МС сопоставимо с данными маркерного и эхографического исследований и повышает точность дифференциально-диагностического этапа обследования пациентов с доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолями и опухолевидными образованиями яичников.
3. При распространенных стадиях РЯ ВСЗ и наружного генитального эндометриоза с ЭКЯ выявлены характерные различия экспрессии экзосомальных микроРНК в отличие от наблюдаемых групп контроля; в качестве маркеров РЯ ВСЗ были отобраны повышено экспрессированные 6 микроРНК: miR-100-5p, -141-3p, -199a-5p, -200b-3p, -203a-3p, -224-5p, -4488, в качестве маркеров ЭКЯ при наружном генитальном эндометриозе – повышено экспрессированные 5 микроРНК (miR-486-5p, -3184-3p, -4732-5p, -423-5p, -92b-5p).
4. При РЯ ВСЗ установлено снижение содержание ряда метаболитов в плазме крови (аланин, бетаин, глутамин, глюкоза, серин, триметиламиноксид). Снижение содержание указанных метаболитов обратно пропорционально повышению СА 125 в плазме крови при РЯ ВСЗ.
5. Выживаемость без прогрессирования ниже при проведении первым этапом химиотерапевтического лечения. Предикторами снижения выживаемости без прогрессирования после полной первичной циторедуктивной операции являются отсутствие мутации в генах BRCA, метастатическое поражение сальника и кишечника, предикторами снижения выживаемости без прогрессирования после интервальной циторедуктивной операции являются метастатическое поражение брюшины и отсутствие мутации в генах BRCA.
6. Определение липидных профилей крови до начала комбинированного лечения пациентов с распространенным РЯ ВСЗ позволяет прогнозировать менее благоприятные исходы течения заболевания: платинорезистентность и сокращение выживаемости без прогрессирования.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При выявлении опухолевидных образований и опухолей яичников перед применением методов уточняющей диагностики и выполнением оперативного вмешательства пациентам рекомендовано рассчитывать показатели модели ADNEX при проведении УЗИ органов малого таза.
2. В качестве дополнительного неинвазивного метода дифференциальной диагностики пациентам с опухолями и опухолевидными образованиями яичников рекомендовано определение липидного профиля крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией.
3. На этапе клиничко-лабораторной диагностики всем пациентам с распространенным раком яичников следует рассчитывать прогностический нутритивный индекс для выяснения вероятности оптимального результата предстоящего хирургического лечения.
4. Перед началом комбинированного лечения пациентам с распространенными стадиями РЯ ВСЗ необходимо определение липидного профиля для прогнозирования течения заболевания.
5. Ведение пациентов с опухолевидными образованиями и опухолями яичников (серозная доброкачественная цистаденома, эндометриоидная киста яичника, зрелая тератома, серозная пограничная цистаденома, серозный рак яичников низкой степени злокачественности, серозный рак яичников высокой степени злокачественности I-II и III-IV стадий) целесообразно согласно разработанному алгоритму.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВБП	выживаемость без прогрессирования
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ВЭЖХ-МС	высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией
ДЭМ	дифференциально экспрессированные микроРНК
ЗНО	злокачественное новообразование
ИГХ	иммуногистохимическое исследование
ИМТ	индекс массы тела
ИПК	индекс перитонеального канцероматоза
ИР	индекс резистентности
ИЦРО	интервальная циторедуктивная операция
ЛАЭ	лимфаденэктомия
ЛУ	лимфатический (-ие) узел (-ы)
мес.	месяц (-ы)
мл	миллилитр (-ы)
МПВ	наблюдаемые женщины периода менопаузального перехода и постменопаузального возраста (группа контроля)
МРТ	магнитно-резонансная томография
НАХТ	неoadъювантная химиотерапия
НЗ	не значимо (статистической значимости проанализированных данных не обнаружено)
ООВОЯ	опухоли и опухолевидные образования яичников
ОР	относительный риск показателей модели ADNEX
ПОЯ	пограничная (-ые) опухоль (-и) яичников
ПСР	пациент-специфический риск показателей модели ADNEX
ПЦ (+)	прогностическая ценность положительного результата
ПЦ (-)	прогностическая ценность отрицательного результата
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦРО	первичная циторедуктивная операция
РВ	наблюдаемые женщины репродуктивного возраста (группа контроля)
РНК	рибонуклеиновые кислоты
РОИ	режим отрицательных ионов
РОП	разработанный оценочный параметр
РПИ	режим положительных ионов
РЯ ВСЗ	рак яичников высокой степени злокачественности (high grade)
РЯ НСЗ	рак яичников низкой степени злокачественности (low grade)
УЗИ	ультразвуковое исследование
ЦДК	цветовое доплеровское картирование
ЦРО	циторедуктивная операция
ЭДТА	этилендиаминтетрауксусная кислота
ЭКЯ	эндометриоидная (-ые) киста (-ы) яичника (-ов)
ЯМР	метод спектроскопии ядерного магнитного резонанса
ADNEX	the assessment of different neoplasia in the adnexa – оценочная модель различных опухолей яичников
AUC	area under the (receive) curve – площадь под ROC (операционной)-кривой
CA 125	cancer antigen 125
CE	cholesteryl esters – эфиры холестерина
Cer	ceramides - церамиды
СС	completeness cytoreduction – полнота циторедукции

DG	diglycerides - диглицериды
DWI	the diffusion weighted imaging – диффузионно-взвешенное изображение
FIGO	the International Federation of Gynecology and Obstetrics - Международная федерация гинекологии и акушерства
HE4	human epididymis protein
HexCer	hexosylceramides - гексозилцерамиды
IOTA	the international ovarian tumour analysis – международная группа по изучению опухолей яичников
LPC	lysophosphatidylcholines - лизофосфатидилхолины
LPE	lysophosphatidylethanolamines - лизофосфатидилэтаноламины
m/z	mass to charge ratio - отношение массы к заряду
M	среднее значение
Me	медиана
MG	monoglycerides - моноглицериды
MGDG	monogalactosyldiacylglycerols - моногалактозилдиацилглицеролы
OPLS-DA	the orthogonal partial least squares discriminant analysis – дискриминантный анализ ортогональных проекций на скрытые структуры
OxCL	oxidized cholesteryl linoleate - окисленный холестерил линолеат
OxLPC	oxidized lysophosphatidylcholine – окисленный лизофосфатидилхолин
p <sub>adj</sub>	the p-value adjusted – скорректированное значение критерия p (p-value)
PARP-ингибиторы	ингибиторы поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (poly (ADP-ribose) polymerase)
PA	phosphatidic acid - фосфатидиловая кислота
PC	фосфатидилхолины (phosphatidylcholines)
PE	phosphatidylethanolamines - фосфатидилэтаноламины
PEtOH	phosphatidylethanol - фосфатидилэтанол
PG	phosphatidylglycerols - фосфатидилглицеролы
PI	phosphatidylinositols - фосфатидилинозитолы
Plasmany-PC	plasmeylphosphatidylcholines - плазменилфосфатидилхолины
Plasmenyl-PE	plasmeylphosphatidylethanolamines - плазменилэтаноламины
ppm	parts per million (части на миллион) - миллионные доли
PS	phosphatidylserines - фосфатидилсерины
Q1; Q3	первый и третий квартили
RMI	the Risk of Malignancy Index
ROC-кривая	the receiver operating characteristic
ROMA	the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm - индекс расчета риска наличия злокачественной опухоли яичника
SD	standard deviation – стандартное отклонение
Se	sensitivity - чувствительность
SM	sphingomyelins – сфингомиелины
Sp	specificity - специфичность
STRAW+10	Stages of Reproductive Aging Workshop - стадии репродуктивного старения
TG	triglycerides – триглицериды
VIP	variable influence on projection - анализ влияния переменной на проекцию

## СПИСОК ТЕРМИНОВ

**Выживаемость без прогрессирования** (ВБП, progression free survival) - интервал времени от даты установления диагноза и начала лечения до выявления рецидива заболевания с помощью методов объективной диагностики, или до даты смерти от рецидива, или до даты последней консультации пациента, рецидив у которого зафиксирован не был [207].

**Прогностическая ценность положительного результата** (PVP – the predictive value for a positive test) - вероятность наличия заболевания при положительном (патологическом) результате.

**Прогностическая ценность отрицательного результата** (PVN - the predictive value for a negative test) - вероятность наличия заболевания при отрицательном (нормальном) результате.

Медиана ВБП - период времени, который переживает половина пациентов с установленным диагнозом до момента наступления рецидива.

**VIP** (variable influence on projection) - анализ влияния переменной на проекцию, который позволяет интерпретировать важность вклада изучаемых переменных (например, липиды) для выявления компонентов (масс-спектрометрических пиков,  $m/z$ ), которые оказались наиболее существенными для создания фенотипической классификации в исследовании.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Биомаркеры при новообразованиях яичников: возможности, ограничения и перспективы применения у женщин репродуктивного возраста / С. В. Павлович, М. В. Юрова, А. Г. Мелкумян [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2019. – Т. 11. – С. 65-73.
2. Диагностика серозного рака яичников высокой степени злокачественности Ia – Ic стадии по липидному профилю сыворотки крови / М. В. Юрова, В. Франкевич, С. Павлович [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2021. – Т. 23. – № 4. – С. 335-340.
3. Дифференциация серозных новообразований яичников на основании масс-спектрометрического анализа липидного профиля сыворотки крови: пилотное исследование / М. В. Юрова, В. В. Чаговец, В. Е. Франкевич [и др.]. – 2021. – Т. 9. – С. 107-119.
4. Значение изменений липидома при новообразованиях яичников. Обзор литературы / М. В. Юрова, С. В. Павлович, Г. Н. Хабас [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2021. – Т. 8. – С. 39-48.
5. Использование транскриптомных баз данных для анализа патогенетических факторов эндометриоза / М. Ю. Бобров, И. С. Балашов, Е. С. Филиппова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2017. – № 4. – С. 34-44.
6. Каприн А. Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзадова. – 2020. – С. 239 с.
7. Клинические рекомендации. Пограничные опухоли яичников. Ассоциация онкологов России, общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии». – 2020.
8. Метаболомная подпись свободных муцинов при онкологических заболеваниях: СА125 и рак яичников высокой степени злокачественности / В. В. Чаговец, В. Г. Васильев, М. В. Юрова [и др.] // ВЕСТНИК РГМУ. – 2021. – Т. 6. – С. 10-16.
9. Назаренко Т. А. Сохранение репродуктивного материала у онкологических больных как медико-социальная и организационная проблема / Т. А. Назаренко. – 2020. – Т. 9. – С. 60-65.
10. Новая методология быстрого мониторинга аутентичности и определения содержания фармацевтических субстанций в антибиотиках без использования стандартных образцов / А. С. Прокопьев, В. А. Ивлев, В. Г. Васильев [и др.] // Антибиотики и Химиотерапия. – 2017. – Т. 62. – № (7-8). – С. 48-55.
11. Особенности профиля стероидных гормонов крови пациентов репродуктивного возраста с распространенным эндометриозом / С. В. Павлович, М. В. Юрова, В. В. Чаговец [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2021. – Т. 3. – С. 90-100.
12. Оценка результатов комбинированного лечения пациентов с диссеминированным раком яичников / М. В. Юрова, Г. Н. Хабас, С. В. Павлович [и др.] // Гинекология. – 2022. – Т. 24. – № 2.

– С. 171-178.

13. Оценка экспрессии микроРНК в очагах ретроцервикального эндометриоза / М. Ю. Бобров, И. С. Балашов, Е. С. Филиппова [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2018. – Т. 6. – С. 55-61.
14. Практические рекомендации по лечению пограничных опухолей яичников / И. Ю. Давыдова, Л. А. Ашрафян, А. И. Карселадзе [и др.] // *Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO*. – 2020. – Т. 3s2. – № том 10. – С. 210-220.
15. Рак яичников: новые акценты лечения больных с платиночувствительными рецидивами / А. Г. Кедрова, А. Г. Никитин, В. В. Косый, М. В. Юрова // *Опухоли женской репродуктивной системы*. – 2016. – Т. 12. – № 3. – С. 53-61.
16. Рак яичников/рак маточной трубы/первичный рак брюшины: [клинические рекомендации: утверждены Общероссийским национальным союзом «Ассоциация онкологов России» «22» ноября 2019г.: по состоянию на 2020г.]. – 2020.
17. Серомуцинозные опухоли яичников и эндометриоз у женщин репродуктивного возраста / М. В. Шамаракова, Л. В. Адамян, А. В. Асатурова [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2018. – Т. 7. – С. 84-91.
18. Экзосомальные длинные некодирующие РНК как биомаркеры и терапевтические мишени при раке / О. А. Бейлерли, И. Ф. Гареев, В. Н. Павлов [и др.]. – 2019. – Т. 9. – № 4. – С. 297-304.
19. Экспрессия экзосомальных микроРНК при раке яичников высокой степени злокачественности и эндометриоидных кистах яичников / М. В. Юрова, Ч. М. Эльдаров, М. Ю. Бобров [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2022. – Т. 3. – С. 68-79.
20. A comprehensive classification system for lipids / E. Fahy, S. Subramaniam, H. A. Brown [et al.] // *Journal of Lipid Research*. – 2005. – Vol. 46. – P. 839-861.
21. A critical appraisal of the circulating levels of differentially expressed microRNA in endometriosis / A. Leonova, V. E. Turpin, S. K. Agarwal [et al.] // *Biology of Reproduction*. – 2021. – Vol. 105. – № July. – P. 1075-1085.
22. A mini-review regarding the carcinogenesis and morphology of serous tumors of the ovary, fallopian tube and peritoneum / T.-A. Georgescu, R. Bohiltea, O. Munteanu [et al.] // *J Mind Med Sci*. – 2021. – Vol. 8. – № 1. – P. 44-52.
23. A Novel Two-Lipid Signature Is a Strong and Independent Prognostic Factor in Ovarian Cancer / L. Salminen, E. I. Braicu, M. Lääperi [et al.] // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13. – № 1764. – P. 1-12.
24. A Randomized Trial of Lymphadenectomy in Patients with Advanced Ovarian Neoplasms / P. Harter, J. Sehouli, D. Lorusso [et al.]. – 2019.
25. A survival analysis comparing women with ovarian low-grade serous carcinoma to those with high-grade histology / M. Chen, Y. Jin, Y. Bi [et al.] // *OncoTargets and Therapy*. – 2014. – Vol. 7. – P. 1891-1899.

26. Accumulated metabolites of hydroxybutyric acid serve as diagnostic and prognostic biomarkers of ovarian high-grade serous carcinomas / M. Hilvo, I. De Santiago, P. Gopalacharyulu [et al.] // *Cancer Research*. – 2016. – Vol. 76. – № 4. – P. 796-804.
27. Acs G. Serous and mucinous borderline (low malignant potential) tumors of the ovary / G. Acs // *Am J Clin Pathol*. – 2005. – Vol. 123. – № Suppl. – P. S13-S57.
28. Advances in Lipidomics for Cancer Biomarkers Discovery / F. Perrotti, C. Rosa, I. Cicalini [et al.] // *Int. J. Mol. Sci*. – 2016. – Vol. 17. – № 1992. – P. 1-26.
29. Alteration of Myeloid-Derived Suppressor Cells , Chronic Inflammatory Cytokines , and Exosomal miRNA Contribute to the Peritoneal Immune Disorder of Patients With Endometriosis / Y. Chen, K. Wang, Y. Xu [et al.] // *Reprod Sci*. – 2018. – Vol. 26. – № 8. – P. 1130-1138.
30. An experimental strategy unveiling exosomal microRNAs 486-5p , 181a-5p and 30d-5p from hypoxic tumour cells as circulating indicators of high-risk rectal cancer / T. Bjørntrø, K. Røe, S. Meltzer, N. Sivarajah // *Journal of Extracellular Vesicles*. – 2019. – Vol. 8. – № 1.
31. Analysis of menstrual effluent: Diagnostic potential for endometriosis / L. A. Warren, A. Shih, S. M. Renteira [et al.] // *Molecular Medicine*. – 2018. – Vol. 24. – № 1. – P. 1-12.
32. Analysis of the Human Adult Urinary Metabolome Variations with Age, Body Mass Index, and Gender by Implementing a Comprehensive Workflow for Univariate and OPLS Statistical Analyses / E. A. Thevenot, A. Roux, Y. Xu [et al.] // *J Proteome Res*. – 2015. – Vol. 14. – № 8. – P. 3322-3335.
33. Ashraf M. A. Outcome of fertility-preserving surgery for ovarian malignancy in young women Case Report / M. A. Ashraf, P. Dasari. – 2018. – P. 51-54.
34. Assessment of Adult Women With Ovarian Masses and Treatment of Epithelial Ovarian Cancer: ASCO Resource-Stratified Guideline / V. D. Vanderpuye, J. R. V Clemenceau, S. Temin [et al.] // *JCO Global Oncol*. – 2021. – Vol. 7. – P. 1032-1066.
35. Assessment of published models and prognostic variables in epithelial ovarian cancer at Mayo Clinic / A. E. W. Hendrickson, K. M. Hawthorne, E. L. Goode [et al.] // *Gynecologic Oncology*. – 2015. – Vol. 137. – № 1. – P. 77-85.
36. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology Risk for and consequences of endometriosis: A critical epidemiologic review / A. L. Shafrir, L. V Farland, D. K. Shah, H. R. Harris // *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. – 2018. – № July. – P. 1-15.
37. Biochemical Markers of Ascitic Fluid to Differentiate Ovarian Cancer from Liver Cirrhosis Patients / M. K. Pasha, B. R. Kumar, R. Macherla [et al.] // *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. – 2020. – Vol. 14. – № 6. – P. BC01-BC04.
38. Biochimica et Biophysica Acta Common cases of improper lipid annotation using high-resolution tandem mass spectrometry data and corresponding limitations in biological interpretation / J. P. Koelmel, C. Z. Ulmer, C. M. Jones [et al.] // *BBA - Molecular and Cell Biology of Lipids*. – 2017. –

P. 4-8.

39. Bjorkman S. MicroRNAs in endometriosis: biological function and emerging biomarker candidates / S. Bjorkman, H. S. Taylor // *MicroRNAs in endometriosis: biological function and emerging biomarker candidates*. – 2019. – Vol. 100. – *MicroRNAs Endometr. Biol. Funct. Emerg. Biomark. candidates*. – № 5. – P. 1135-1146.
40. “Blood on the Tracks” from corpora lutea to endometriomas / P. Vercellini, E. Somigliana, P. Vigano [et al.] // *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2009. – Vol. 116. – № 3. – P. 366-371.
41. Borderline tumors of the ovary – a systematic review [German] / A. Du Bois, N. Ewald-Riegler, O. du Bois, P. Harter // *eburtsh Frauenheilk.* – 2009. – Vol. 69. – P. 807-833.
42. 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 / K. Alsop, S. Fereday, C. Meldrum [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2012. – Vol. 30. – № 21. – P. 2654-2663.
43. Cancer-Associated Mutations in Endometriosis without Cancer / M. S. Anglesio, N. Papadopoulos, A. Ayhan [et al.] // *The New England journal of medicine*. – 2017. – Vol. 376. – № 19. – P. 1835-1848.
44. Cancer biomarkers and mass spectrometry-based analyses of phospholipids in body fluids / K. Jelonek, M. Ros, M. Pietrowska, P. Widlak // *Clinical Lipidology*. – 2013. – Vol. 8. – № 1. – P. 137-150.
45. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma // *Nature*. – 2011. – Vol. 474. – № 7353. – P. 609-615.
46. Cancer incidence and survival trends by subtype using data from the Surveillance Epidemiology and End Results Program, 1992–2013 / A. Noone, K. A. Cronin, S. F. Altekruse [et al.] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2017. – Vol. 26. – № 4. – P. 632-641.
47. Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum / J. S. Berek, S. T. Kehoe, L. Kumar, M. Friedlander // *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. – 2018. – Vol. 143. – P. 59-78.
48. Ceramide and sphingosine-1-phosphate in cancer, two faces of the sphinx / M. P. Espartero, A. A. Shamseddine, M. M. Adada [et al.] // *Transl Cancer Res.* – 2015. – Vol. 4. – № 5. – P. 484-499.
49. Chemoresistance in ovarian cancer linked to expression of microRNAs / P. J. Frederick, H. N. Green, J. S. Huang [et al.]. – 2013.
50. Chemotherapy Response Score: Development and Validation of a System to Quantify Histopathologic Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Tubo-Ovarian High-Grade Serous Carcinoma / S. Böhm, A. Faruqi, I. Said [et al.]. – 2015. – Vol. 33. – № 22.
51. Circulating MicroRNA miR-323-3p as a Biomarker of Ectopic Pregnancy METHODS :

RESULTS : / Z. Zhao, Q. Zhao, J. Warrick [et al.]. – 2012. – Vol. 905.

52. Classification and staging of malignant tumours in the female pelvis // *Acta Obstet Gynec Scand.* – 1971. – Vol. 50. – P. 1-7.
53. Clear Cell and Endometrioid Carcinomas: are their differences attributable to distinct cells of origin? / D. R. Cochrane, K. M. Tessier-Cloutier, B., Lawrence, T. Nazeran [et al.] // *J Pathol.* – 2017. – Vol. 243. – № 1. – P. 26-36.
54. Clinical research methodologies in diagnosis and staging of patients with peritoneal carcinomatosis / P. H. Sugarbaker ed. . – 1996.
55. Clinical significance of microRNA-200 and let-7 families expression assessment in patients with ovarian cancer / S. Ferneza, M. Fetsych, R. Shuliak [et al.]. – 2021. – P. 1-17.
56. Clinical utility of circulating non-coding RNAs — an update / S. Anfossi, A. Babayan, K. Pantel, G. A. Calin // *Nature Reviews Clinical Oncology.* – 2018. – Vol. 15. – № 9. – P. 541-563.
57. Clinicopathological and prognostic implications of the miR-200 family in patients with epithelial ovarian cancer / Q. Cao, K. Lu, S. Dai [et al.]. – 2014. – Vol. 7. – № 5. – P. 2392-2401.
58. Combined CCNE1 high-level amplification and overexpression is associated with unfavourable outcome in tubo-ovarian high-grade serous carcinoma / A. M. Chan, E. Enwere, J. B. McIntyre [et al.] // *J Pathol Clin Res.* – 2020. – Vol. 6. – P. 252-262.
59. Combined Mass Spectrometry Imaging and Top-down Microproteomics Reveals Evidence of a Hidden Proteome in Ovarian Cancer / V. Delcourt, J. Franck, E. Leblanc [et al.] // *EBioMedicine.* – 2017. – Vol. 21. – P. 55-64.
60. Combined symptom index and second-generation multivariate biomarker test for prediction of ovarian cancer in patients with an adnexal mass / R. R. Urban, T. C. Pappas, R. G. Bullock [et al.] // *Gynecologic Oncology.* – 2018. – Vol. 150. – № 2. – P. 318-323.
61. Comparison of CA 125 alone and risk of ovarian malignancy algorithm (ROMA) in patients with adnexal mass: A multicenter study / H. Choi, Y. Lee, I. Sohn [et al.] // *Current Problems in Cancer.* – 2019. – Vol. 20. – № 40. – P. 1-9.
62. Comparison of Peritoneal Carcinomatosis Scoring Methods in Predicting Resectability and Prognosis in Gynecologic Malignancies / M. T. Climent, A. Serra, J. Gilabert-Estellés [et al.] // *Journal of Clinical Medicine.* – 2021. – Vol. 10. – № 12. – P. 2553.
63. Comparison of the effectiveness of variable selection method for creating a diagnostic panel of biomarkers for mass spectrometric lipidome analysis / A. O. Tokareva, V. V. Chagovets, A. S. Kononikhin [et al.] // *Journal of Mass Spectrometry.* – 2021. – Vol. 56. – № 3. – P. 1-5.
64. Composition and concentration of serum fatty acids of phospholipids depend on tumour location and disease progression in colorectal patients / B. Jolanta, B. Joanna, H. Z. Diana, S. Krystyna // *Journal of Medical Biochemistry.* – 2018. – Vol. 37. – № 1. – P. 39-45.

65. Connor M. J. O. Review Targeting the DNA Damage Response in Cancer / M. J. O. Connor // *Molecular Cell*. – 2015. – Vol. 60. – № 4. – P. 547-560.
66. Correlation of ultrasound features and the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm score for different histopathological subtypes of benign adnexal masses / C. A. Ionescu, A. Matei, D. Navolan [et al.] // *Medicine*. – 2018. – Vol. 97. – № 31. – P. e11762.
67. Cross-Laboratory Standardization of Preclinical Lipidomics Using Differential Mobility Spectrometry and Multiple Reaction Monitoring / M. Ghorasaini, Y. Mohammed, J. Adamski [et al.] // *Analytical Chemistry*. – 2021. – Vol. 93. – № 49. – P. 16369-16378.
68. Cuello M. A. The impact on high-grade serous ovarian cancer of obesity and lipid metabolism-related gene expression patterns : the underestimated driving force affecting prognosis / M. A. Cuello, S. Kato, F. Liberona. – 2018. – Vol. 22. – № 3. – P. 1805-1815.
69. Cullen B. R. Derivation and function of small interfering RNAs and microRNAs / B. R. Cullen // *Virus Research*. – 2004. – Vol. 102. – № 1. – P. 3-9.
70. Demir A. The Relationship Between the Prognostic Nutritional Index and Overall Survival in Elderly Patients with Epithelial Ovarian Cancer / A. Demir // *Eurasian Journal of Medical Investigation*. – 2020. – Vol. 4. – № 2. – P. 269-273.
71. Detection of epithelial ovarian cancer using <sup>1</sup>H-NMR-based metabonomics / K. Odunsi, R. M. Wollman, C. B. Ambrosone [et al.]. – 2005. – Vol. 788. – P. 782-788.
72. Development and Validation of the Gene Expression Predictor of High-grade Serous Ovarian Carcinoma Molecular SubTYPE ( PrOTYPE ) / A. Talhouk, J. George, C. Wang [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2020. – Vol. 26. – № 20. – P. 5411-5424.
73. Devouassoux-Shisheboran M. Pathobiology of ovarian carcinomas / M. Devouassoux-Shisheboran, C. Genestie // *Chinese Journal of Cancer*. – 2015. – Vol. 34. – № 1. – P. 50-55.
74. Diagnosis of early stage ovarian cancer by <sup>1</sup>H NMR metabonomics of serum explored by use of a microflow NMR probe / E. Garcia, C. Andrews, J. Hua [et al.]. – 2011. – Vol. 10. – № 4. – P. 1765-1771.
75. Diagnostic Added-Value of Serum CA-125 on the IOTA Simple Rules and Derivation of Practical Combined Prediction Models / I. S. R. X. Ca-, P. Phinyo, J. Patumanond [et al.]. – 2021.
76. Different lipid regulation in ovarian cancer: Inhibition of the immune system / C. Wefers, T. Duiveman-De Boer, P. L. M. Zusterzeel [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2018. – Vol. 19. – № 1.
77. Differential plasma lipids profiling and lipid signatures as biomarkers in the early diagnosis of ovarian carcinoma using UPLC-MS / Y. Hou, J. Li, H. Xie [et al.] // *Metabolomics*. – 2016. – Vol. 12. – № 2. – P. 1-12.
78. Distinct plasma lipids profiles of recurrent ovarian cancer by liquid chromatography-mass

- spectrometry / J. Li, H. Xie, A. Li [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8. – № 29. – P. 46834-46845.
79. Drescher C. W. The Yet Unrealized Promise of Ovarian Cancer Screening / C. W. Drescher, G. L. Anderson. – 2018. – P. 13-14.
80. Driver mutations in TP53 are ubiquitous in high grade serous carcinoma of the ovary / A. A. Ahmed, D. Etemadmoghadam, J. Temple [et al.] // *Journal of Pathology*. – 2010. – Vol. 221. – P. 49-56.
81. Effect of quality of gynaecological ultrasonography on management of patients with suspected ovarian cancer : a randomised controlled trial / J. Yazbek, S. K. Raju, J. Ben-nagi [et al.]. – 2008. – Vol. 9. – № February.
82. Effect of Screening on Ovarian Cancer Mortality: The Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Randomized Controlled Trial / S. S. Buys, E. Partridge, A. Black [et al.] // *JAMA*. – 2021. – Vol. 305. – № 22. – P. 2295-2303.
83. EnrichNet : network-based gene set enrichment analysis / E. Glaab, A. Baudot, N. Krasnogor [et al.] // *Bioinformatics*. – 2012. – Vol. 28. – P. 451-457.
84. ESGO/ISUOG/IOTA/ESGE Consensus Statement on preoperative diagnosis of ovarian tumors / D. Timmerman, F. Planchamp, T. Bourne [et al.] // *Ultrasound Obstet Gyneco*. – 2021. – Vol. 58. – P. 148-168.
85. ESMO-ESGO consensus conference recommendations on ovarian cancer: Pathology and molecular biology, early and advanced stages, borderline tumours and recurrent disease / N. Colombo, C. Sessa, A. Du Bois [et al.] // *Annals of Oncology*. – 2019. – Vol. 30. – № 5. – P. 672-705.
86. Estimation of plasma lipids and its significance on histopathological grades in oral cancer : Prognostic significance an original research / E. J. Sherubin, K. S. Kannan, D. N. Kumar, I. Joseph. – 2013. – Vol. 17. – № 1. – P. 4-9.
87. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology Long-term follow-up after ovarian borderline tumor: Relapse and survival in a large patient cohort / M. Lenhard, S. Mitterer, C. Kümper [et al.] // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 2009. – Vol. 145. – P. 189-194.
88. European society of Gynaecological Oncology (ESGO) guidelines for ovarian cancer surgery / D. Querleu, F. Planchamp, L. Chiva [et al.] // *International Journal of Gynecological Cancer*. – 2017. – Vol. 27. – № 7. – P. 1534-1542.
89. EV-Associated miRNAs from Peritoneal Lavage are a Source of Biomarkers in Endometrial Cancer / B. Roman-canal, C. P. Moiola, S. Gatius [et al.] // *Cancers*. – 2019. – Vol. 11. – № 6. – P. 839.
90. Evaluation, validation and refinement of noninvasive diagnostic biomarkers for endometriosis (ENDOMarker): A protocol to phenotype bio-specimens for discovery and validation / K. Barnhart, L. Giudice, S. Young [et al.] // *Contemporary Clinical Trials*. – 2018. – Vol. 68. – P. 1-6.
91. Evaluation of steroidomics by liquid chromatography hyphenated to mass spectrometry as a

- powerful analytical strategy for measuring human steroid perturbations / F. Jeanneret, D. Tonoli, M. F. Rossier [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2016. – Vol. 1430. – P. 97-112.
92. Evaporative Ionization Mass Spectrometry / J. Balog, T. Szaniszló, K. Schaefer [et al.]. – 2010. – Vol. 82. – № 17. – P. 7343-7350.
93. Exosome biogenesis, bioactivities and functions as new delivery systems of natural compounds / A. A. Farooqi, N. N. Desai, M. Z. Qureshi [et al.] // *Biotechnology Advances*. – 2018. – Vol. 36. – № 1. – P. 328-334.
94. Fertility preservation in ovarian tumours / F. Tomao, A. Di Pinto, C. M. Sassu [et al.] // *Ecancermedicalscience*. – 2018. – Vol. 12. – P. 1-14.
95. First International Consensus Report on Adnexal Masses / P. Glanc, B. Benacerraf, T. Bourne [et al.] // *J UltrasoundMed*. – 2017. – Vol. 36. – № 5. – P. 849-863.
96. Folch J. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G. H. Sloane Stanley // *J. Biol. Chem*. – 1957. – Vol. 226. – № 1. – P. 497-509.
97. Gaia-Oltean, A. I., Braicu, C., Gulei, D., Ciortea, R., Miha, D., Roman, H., Irimie, A., & Berindan-Neagoe I. Ovarian endometriosis, a precursor of ovarian cancer: Histological aspects, gene expression and microRNA alterations (Review) / I. Gaia-Oltean, A. I., Braicu, C., Gulei, D., Ciortea, R., Miha, D., Roman, H., Irimie, A., & Berindan-Neagoe // *Experimental and therapeutic medicine*. – 2021. – Vol. 21. – № 3. – P. 1-12.
98. Gajek A. Current Implications of microRNAs in Genome Stability and / A. Gajek, P. Gralewska // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13. – P. 2690.
99. Gene regulatory networking reveals the molecular cue to lysophosphatidic acid-induced metabolic adaptations in ovarian cancer cells / U. Ray, S. Roy Chowdhury, M. Vasudevan [et al.] // *Molecular oncology*. – 2017. – Vol. 11. – № 5. – P. 491-516.
100. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. – 2019.
101. Genomic analysis of low-grade serous ovarian carcinoma to identify key drivers and therapeutic vulnerabilities / D. Cheasley, A. Nigam, M. Zethoven [et al.] // *J Pathol*. – 2021. – Vol. 253. – № 1. – P. 41-54.
102. Germline variants in DNA repair genes associated with hereditary breast and ovarian cancer syndrome : analysis of a 21 gene panel in the Brazilian population / S. Carvalho, N. M. Cury, D. B. Brotto [et al.] // *BMC Med Genomics*. – 2020. – Vol. 13. – № 1. – P. 21.
103. Gilks, C.B.; Davidson, B.; Köbel, M.; Ledermann, J.A.; Lim, D.; Malpica, A.; Mikami, Y.; Singh, N.; Srinivasan, R.; Vang R. . et al. Ovary, Fallopian Tube and Primary Peritoneal Carcinoma Histopathology Reporting Guide; International Collaboration on Cancer Reporting: Sydney, Australia / R. . et al. Gilks, C.B.; Davidson, B.; Köbel, M.; Ledermann, J.A.; Lim, D.; Malpica, A.; Mikami, Y.;

Singh, N.; Srinivasan, R.; Vang. – 2021. – 1-40 p.

104. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries / H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel [et al.]. – 2021. – Vol. 71. – № 3. – P. 209-249.

105. Guideline No. 404: Initial Investigation and Management of Benign Ovarian Masses / W. Wolfman, J. Thurston, G. Yeung, P. Glanc // Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada. – 2020. – Vol. 42. – № 8. – P. 1040-1050.el.

106. Gut Microbiota-Dependent Trimethylamine N-oxide (TMAO) Pathway Contributes to Both Development of Renal Insufficiency and Mortality Risk in Chronic Kidney Disease / W. H. Tang, W. Zeneng, D. Kennedy [et al.] // Circ Res. – 2015. – Vol. 116. – № 3. – P. 448-455.

107. Gynecologic Oncology Hormone receptor expression and outcomes in low-grade serous ovarian carcinoma / M. Llauro, A. Dawson, H. Kim [et al.] // Gynecologic Oncology. – 2019. – № xxxx.

108. Gynecologic Oncology Improved progression-free and overall survival in advanced ovarian cancer as a result of a change in surgical paradigm ☆ / D. S. Chi, E. L. Eisenhauer, O. Zivanovic [et al.] // Gynecologic Oncology. – 2009. – Vol. 114. – № 1. – P. 26-31.

109. Gynecologic Oncology Operability and chemotherapy responsiveness in advanced low-grade serous ovarian cancer . An analysis of the AGO Study Group metadatabase / J. P. Grabowski, P. Harter, F. Heitz [et al.] // Gynecologic Oncology. – 2016. – Vol. 140. – P. 457-462.

110. Gynecologic Oncology Pathological chemotherapy response score is prognostic in tubo-ovarian high-grade serous carcinoma : A systematic review and meta-analysis of individual patient data / P. A. Cohen, A. Powell, S. Böhm [et al.]. – 2019. – Vol. 154. – P. 441-448.

111. Hajj C. Novel mechanisms of action of classical chemotherapeutic agents on sphingolipid pathways / C. Hajj, K. A. Becker-Flegler, A. Haimovitz-Friedman // Biological Chemistry. – 2015. – Vol. 396. – № 6-7. – P. 669-679.

112. Hart W. R. Borderline epithelial tumors of the ovary / W. R. Hart // Mod Pathol. – 2005. – Vol. 18. – № (Suppl 2). – P. S33–S50.

113. High-grade ovarian serous carcinoma patients exhibit profound alterations in lipid metabolism / E. I. Braicu, S. Darb-esfahani, W. D. Schmitt [et al.] // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8. – № 61. – P. 102912-102922.

114. High-resolution proton nuclear magnetic resonance spectroscopy of ovarian cyst fluid / E. A. Boss, S. H. Moolenaar, L. F. A. G. Massuger [et al.]. – 2000. – P. 297-305.

115. High-Throughput Metabolomics for Discovering Potential Biomarkers and Identifying Metabolic Mechanisms in Aging and Alzheimer ' s Disease / K. Xie, Q. Qin, Z. Long [et al.] // Front. Cell Dev. Biol. – 2021. – Vol. 9. – № February. – P. 1-11.

116. Highly-accurate metabolomic detection of early-stage ovarian cancer / D. A. Gaul, R. Mezencev,

- T. Q. Long [et al.] // *Scientific Reports*. – 2015. – Vol. 5. – P. 1-7.
117. Histological typing of ovarian tumours / S. F. Serov, R. E. Scully, L. H. & Sobin, & World Health Organization // World Health Organization. – 1973.
118. Histotype classification of ovarian carcinoma: A comparison of approaches / L. C. Peres, K. L. Cushing-haugen, M. Anglesio [et al.] // *Gynecol Oncol*. – 2018. – Vol. 151. – № 1. – P. 53-60.
119. Homologous Recombination DNA Repair Pathway Disruption and Retinoblastoma Protein Loss are Associated with Exceptional Survival in High-Grade Serous Ovarian Cancer / D. W. . Garsed, K. . Alsop, S. . Fereday [et al.] // *r. Clin. Cancer Res*. – 2018. – Vol. 24. – P. 569–580.
120. Hu J. Does TP53 mutation promote ovarian cancer metastasis to omentum by regulating lipid metabolism? / J. Hu, Z. Liu, X. Wang // *Medical Hypotheses*. – 2013. – Vol. 81. – № 4. – P. 515-520.
121. Identification of candidate microRNA markers of endometriosis with the use of next-generation sequencing and quantitative real-time polymerase chain reaction / E. Papari, M. Sc, M. Noruzinia [et al.] // *Fertility and Sterility*. – 2020. – Vol. 113. – № 6. – P. 1232-1241.
122. Identification of novel candidate plasma metabolite biomarkers for distinguishing serous ovarian carcinoma and benign serous ovarian tumors / M. F. Buas, H. Gu, D. Djukovic [et al.] // *Gynecologic Oncology*. – 2016. – Vol. 140. – № 1. – P. 138-144.
123. In vivo, in situ tissue analysis using rapid evaporative ionization mass spectrometry / K. C. Schäfer, J. Dénes, K. Albrecht [et al.] // *Angewandte Chemie - International Edition*. – 2009. – Vol. 48. – № 44. – P. 8240-8242.
124. Intraoperative tissue identification using rapid evaporative ionization mass spectrometry / J. Balog, L. Sasi-Szabó, J. Kinross [et al.] // *Science Translational Medicine*. – 2013. – Vol. 5. – № 194.
125. Islam S. . Lipidomic Analysis of Cancer Cell and Tumor Tissues / S. . Islam, S. K. Manna // *Cancer Metabolism: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*. vol. 1928 / H. M. ed. . – New York, NY, 2019. – P. 175-204.
126. Johnson C. C. The epidemiology of CA-125 in women without evidence of ovarian cancer in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer (PLCO) Screening Trial / C. C. Johnson. – 2008. – Vol. 110. – № 3. – P. 383-389.
127. Köbel M. The Evolution of Ovarian Carcinoma Subclassification / M. Köbel, K. Young // *Cancers*. – 2022. – Vol. 14. – P. 416.
128. Koirala P. Clinical Utility of Preoperative Assessment in Ovarian Cancer Cytoreduction / P. Koirala, A. S. Moon, L. Chuang // *Diagnostics*. – 2020. – Vol. 10. – № 8. – P. 568.
129. Large-scale profiling of metabolic dysregulation in ovarian cancer / C. Ke, Y. Hou, H. Zhang [et al.] // *International Journal of Cancer*. – 2015. – Vol. 116. – P. 516-526.
130. Lehr R. Sixteen s-squared over d-squared: a relation for crude sample size estimates / R. Lehr // *STATISTICS IN MEDICINE*. – 1992. – Vol. 11. – P. 1099-1102.

131. Lheureux S. Epithelial Ovarian Cancer : Evolution of Management in the Era of Precision Medicine / S. Lheureux, M. Braunstein // *CA CANCER J CLIN.* – 2019. – Vol. 69. – P. 280-304.
132. Lipid Alterations in Early-Stage High- Grade Serous Ovarian Cancer / M. Iurova, V. Chagovets, S. Pavlovich [et al.] // *Front. Mol. Biosci.* – 2022. – Vol. 9. – P. 1-9.
133. Lipidome in colorectal cancer / G. Yan, L. Li, B. Zhu, Y. Li // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7. – № 22. – P. 33429-33439.
134. Liquid biopsy in ovarian cancer: the potential of circulating miRNAs and exosomes / L. Giannopoulou, M. Zavridou, S. Kasimir-Bauer, E. S. Lianidou // *Translational Research.* – 2019. – Vol. 205. – P. 77-91.
135. Liu C. miR-486-5p attenuates tumor growth and lymphangiogenesis by targeting neuropilin-2 in colorectal carcinoma / C. Liu, M. Li, Y. Hu // *Onco Targets Ther.* – 2016. – Vol. 9. – P. 2865-2871.
136. Liu X. Quantitative evaluation of a high resolution lipidomics platform / X. Liu. – 2019.
137. Liu X. H. Recurrence season impacts the survival of epithelial ovarian cancer patients / X. H. Liu, Y. N. Man, X. Z. Wu // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* – 2014. – Vol. 15. – № 4. – P. 1627-1632.
138. Lomnytska M. The Peritoneal Cancer Index is a Strong Predictor of Incomplete Cytoreductive Surgery in Ovarian Cancer / M. Lomnytska, I. Sundstro // *Ann Surg Oncol.* – 2021. – Vol. 28. – P. 244-251.
139. Loss of miR-200c : A Marker of Aggressiveness and Chemoresistance in Female Reproductive Cancers / D. R. Cochrane, E. N. Howe, N. S. Spoelstra, J. K. Richer. – 2010. – Vol. 2010.
140. Love M. I. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 / M. I. Love, W. Huber, S. Anders // *Genome Biology.* – 2014. – Vol. 15. – № 12. – P. 1-21.
141. LSR antibody therapy inhibits ovarian epithelial tumor growth by inhibiting lipid uptake / K. Hiramatsu, S. Serada, T. Enomoto [et al.] // *Cancer Research.* – 2018. – Vol. 78. – № 2. – P. 516-527.
142. Lysophosphatidic Acid as a Potential Biomarker for Ovarian and Other Gynecologic Cancers / Y. Xu, Z. Shen, D. W. Wiper [et al.]. – 1998. – Vol. 280. – № 8.
143. Lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 upregulation and concomitant phospholipid alterations in clear cell renal cell carcinoma / Y. Du, Q. Wang, X. Zhang [et al.] // *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research.* – 2017. – Vol. 36. – № 1. – P. 1-11.
144. Management of Asymptomatic Ovarian and Other Adnexal Cysts Imaged at US : Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Implications for Patient Care / D. Levine, D. L. Brown, R. F. Andreotti [et al.] // *Radiology.* – 2010. – Vol. 256. – № 3. – P. 943-954.
145. Management of borderline ovarian tumors / A. Bois, F. Trillsch, S. Mahner [et al.] // 10th International Symposium on Advanced Ovarian Cancer: Optimal Therapy. Update, 6 March 2015, Valencia, Spain. – 2016. – Vol. 27. – № Supplement 1. – P. i20-i22.

146. Management of Borderline Ovarian Tumors — Still a Gray Zone / N. Nayyar, P. Lakhwani, A. Goel [et al.] // *Indian Journal of Surgical Oncology*. – 2017. – Vol. 8. – № 4. – P. 607-614.
147. Masoumi-dehghi S. microRNA-141-3p-containing small extracellular vesicles derived from epithelial ovarian cancer cells promote endothelial cell angiogenesis through activating the JAK / STAT3 and NF- $\kappa$ B signaling pathways / S. Masoumi-dehghi, S. Babashah // *Journal of Cell Communication and Signaling*. – 2020. – Vol. 14. – № 2. – P. 233-244.
148. Mass spectrometry-based metabolic profiling reveals different metabolite patterns in invasive ovarian carcinomas and ovarian borderline tumors / C. Denkert, J. Budczies, T. Kind [et al.] // *Cancer Research*. – 2006. – Vol. 66. – № 22. – P. 10795-10804.
149. Mass spectrometry-based proteomics techniques and their application in ovarian cancer research / A. Swiatly, S. Plewa, J. Matysiak, Z. J. Kokot // *Journal of Ovarian Research*. – 2018. – Vol. 11. – P. 88.
150. Matrix-assisted ultraviolet laser desorption of non-volatile compounds / M. Karas, D. Bachmann, U. Bahr, F. Hillenkamp // *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*. – 1987. – Vol. 78. – P. 53-68.
151. Menon U. Ovarian Cancer Prevention and Screening / U. Menon, C. Karpinskyj // *Obstet Gynecol*. – 2018. – P. 1-19.
152. Metabolic reprogramming of the tumour microenvironment / Y. Xing, S. Zhao, B. P. Zhou, J. Mi // *FEBS Journal*. – 2015. – Vol. 282. – № 20. – P. 3892-3898.
153. Metabolomic serum profiling detects early-stage high-grade serous ovarian cancer in a mouse model / C. M. Jones, M. E. Monge, J. Kim [et al.] // *Journal of Proteome Research*. – 2015. – Vol. 14. – № 2. – P. 917-927.
154. Metabonomic analysis of ovarian tumour cyst fluid by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy / M. Kyriakides, N. Rama, J. Sidhu [et al.]. – 2016. – Vol. 7. – № 6.
155. MicroRNA-200c and microRNA-31 regulate proliferation , colony formation , migration and invasion in serous ovarian cancer / F. F. Ibrahim, R. Jamal, S. E. Syafruddin [et al.] // *Journal of Ovarian Research*. – 2015. – P. 1-14.
156. MicroRNAs as potential diagnostic and prognostic biomarkers in melanoma / H. Mirzaei, S. Gholamin, S. Shahidsales [et al.] // *European Journal of Cancer*. – 2016. – Vol. 53. – P. 25-32.
157. MIENTURNET: an interactive web tool for microRNA-target enrichment and network-based analysis / V. Licursi, F. Conte, G. Fiscon, P. Paci // *BMC Bioinformatics*. – 2019. – Vol. 20. – № 1. – P. 1-10.
158. Mikhaleva L. M. Malignant Transformation and Associated Biomarkers of Ovarian Endometriosis : A Narrative Review / L. M. Mikhaleva, A. I. Davydov, O. I. Patsap // *Advances in Therapy*. – 2020. – Vol. 37. – № 6. – P. 2580-2603.

159. Molecular beams of macroions / M. Dole, L. L. Mack, R. L. Hines [et al.] // *The Journal of Chemical Physics*. – 1968. – Vol. 49. – № 5. – P. 2240-2249.
160. Molecular subtype profiling of invasive breast cancers weakly positive for estrogen receptor / B. S. Sheffield, Z. Kos, K. A. Xiu [et al.] // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2016.
161. Moustafa S, Burn M, Mamillapalli R, Nematian S, Flores V T. H. A. diagnosis of endometriosis using serum microRNAs. *A. J. O. G.* 2020 O. e.-557. e11. doi: 10. 1016/j. ajog. 2020. 02. 050. E. 2020 M. 9. P. 32165186. Accurate diagnosis of endometriosis using serum microRNAs / T. H. A. diagnosis of endometriosis using serum microRNAs. *A. J. O. G.* 2020 O. e.-557. e11. doi: 10. 1016/j. ajog. 2020. 02. 050. E. 2020 M. 9. P. 32165186. Moustafa S, Burn M, Mamillapalli R, Nematian S, Flores V // *The American Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 2020.
162. Mutations in Homologous Recombination Genes and Outcomes in Ovarian Carcinoma Patients in GOG 218: An NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group Study / B. M. Norquist, M. F. Brady, M. I. Harrell [et al.] // *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. – 2018. – Vol. 24. – № 4. – P. 777-783.
163. Neoadjuvant Chemotherapy or Primary Surgery in Stage IIIC or IV Ovarian Cancer / M. E. L. Van Der Burg, D. Ph, A. J. Lacave [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2010. – Vol. 363. – P. 943-953.
164. Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines clinical practice guidelines / J. A. Ledermann, F. A. Raja, C. Fotopoulou [et al.] // *Annals of Oncology*. – 2013. – Vol. Supplement. – P. 24-32.
165. Nougaret S. Ovarian Carcinomatosis : How the Radiologist Can Help Plan the Surgical / S. Nougaret, H. C. Addley, F. P. Em // *RadioGraphics*. – 2012. – Vol. 32. – P. 1775-1800.
166. Novel Molecular Subtypes of Serous and Endometrioid Ovarian Cancer Linked to Clinical Outcome / R. W. Tothill, A. V Tinker, J. George [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2008. – Vol. 14. – № 16. – P. 5198-5209.
167. O-RADS US risk stratification and management system: A consensus guideline from the ACR ovarian-Adnexal Reporting and Data System committee / R. F. Andreotti, D. Timmerman, L. M. Strachowski [et al.] // *Radiology*. – 2020. – Vol. 294. – № 1. – P. 168-185.
168. Oncolipidomics: Mass Spectrometric Quantitation of Lipids in Cancer Research / D. Wolrab, R. Jirásko, M. Chocholoušková [et al.] // *Trends in Analytical Chemistry*. – 2019.
169. Opportunistic Salpingectomy as a Strategy for Epithelial Ovarian Cancer Prevention. ACOG Committee Opinion. American College of Obstetricians and Gynecologists. // *Obstet Gynecol*. – 2019. – Vol. 133. – № 4. – P. 279-284.
170. Ovarian Cancer Including Fallopian Tube Cancer and Primary Peritoneal Cancer. NCCN Evidence Blocks / D. K. Armstrong, R. D. Alvarez, L. Barroilhet [et al.] // *NCCN Clinical Practice*

Guidelines in Oncology. – 2021. – Vol. 3. – P. 1-254.

171. Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS ): a randomised controlled trial / I. J. Jacobs, U. Menon, A. Ryan [et al.] // *The Lancet*. – 2016. – Vol. 387. – № 10022. – P. 945-956.

172. Ovarian Cancer Statistics , 2018 / L. A. Torre, B. Trabert, C. E. Desantis [et al.]. – 2019. – Vol. 68. – № 4. – P. 284-296.

173. Ovarian Carcinoma Histotype: Strengths and Limitations of Integrating Morphology With Immunohistochemical Predictions / M. Köbel, L. Luo, X. Grevers [et al.] // *International journal of gynecological pathology : official journal of the International Society of Gynecological Pathologists*. – 2020. – Vol. 38. – № 4. – P. 353-362.

174. Ovarian masses-applicable IOTA ADNEX model versus morphological findings for accurate diagnosis and treatment / T. Butureanu, D. Socolov, D. R. Matasariu [et al.] // *Appl. Sci*. – 2021. – Vol. 11. – P. 10789.

175. Ovarian Tumor Tissue Analysis (OTTA) Consortium.. Dose-Response Association of CD8 + Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Survival Time in High-Grade Serous Ovarian Cancer // *JAMA Oncol*. – 2017. – Vol. 3. – № 12. – P. e173290.

176. Ovarian tumours of different histologic type and clinical stage induce similar changes in lipid metabolism / R. J. Niemi, E. I. Braicu, H. Kulbe [et al.] // *British Journal of Cancer*. – 2018. – Vol. 119. – № 7. – P. 847-854.

177. Oxygen tension regulates the miRNA profile and bioactivity of exosomes released from extravillous trophoblast cells – Liquid biopsies for monitoring complications of pregnancy / G. Truong, D. Guanzon, V. Kinhal [et al.] // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12. – № 3. – P. 1-27.

178. Parity, infertility, oral contraceptives, and hormone replacement therapy and the risk of ovarian serous borderline tumors: A nationwide case-control study / E. L. K. Rasmussen, C. G. Hannibal, C. Dehlendorff [et al.] // *Gynecologic Oncology*. – 2017. – Vol. 144. – № 3. – P. 571-576.

179. Pegtel D. M. Exosomes / D. M. Pegtel, S. J. Gould // *The Annual Review of Biochemistry*. – 2019. – Vol. 88. – P. 487–514.

180. Peng X. Evaluation of the Diagnostic Value of the Ultrasound ADNEX Model for Benign and Malignant Ovarian Tumors / X. Peng, Y. Ma, L. Wang // *Int J Gen Med*. – 2021. – Vol. 16. – № 14. – P. 5665-5673.

181. Peritoneal Cancer Index and Completeness Cytoreduction Score are Needed to Better Define Stage and Results of Treatment in Advanced Epithelial Ovarian Carcinoma. An Observational Cohort Study / P. Lozano, W. Vásquez, J. Salinas [et al.] // *Clin Oncol*. – 2021. – Vol. 6. – P. 1818.

182. Perween R. Borderline Ovarian Tumor — An Overview and Evidence Based Management / R. Perween, T. Khan // *Pan Asian J Obs Gyn*. – 2019. – Vol. 2. – № 1. – P. 30-36.

183. Pharmacologic rationale for treatments of peritoneal surface malignancy from colorectal cancer / P. H. Sugarbaker, K. Van Der Speeten, O. A. Stuart [et al.] // *World J Gastrointest Oncol.* – 2010. – Vol. 2. – № 1. – P. 19-30.
184. Plasma-derived exosomal miR-4732-5p is a promising noninvasive diagnostic biomarker for epithelial ovarian cancer / J. Liu, J. Yoo, J. Y. Ho [et al.] // *Journal of Ovarian Research.* – 2021. – Vol. 14. – P. 59.
185. Plasma and ovarian tissue sphingolipids profiling in patients with advanced ovarian cancer / P. Knapp, L. Bodnar, A. Błachnio-Zabielska [et al.] // *Gynecologic Oncology.* – 2017. – Vol. 147. – № 1. – P. 139-144.
186. Plasma lipid profiling and diagnostic biomarkers for oral squamous cell carcinoma / L. Wang, X. Wang, Y. Li [et al.] // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8. – № 54. – P. 92324-92332.
187. Plasma miRNAs as biomarkers for endometriosis / A. Vanhie, D. Peterse, A. Beckers [et al.] // *Human Reproduction.* – 2019. – Vol. 34. – № 9. – P. 1650-1660.
188. Predictive blood-based biomarkers in epithelial ovarian cancer patients treated with carboplatin and paclitaxel with or without bevacizumab: Results from GOG-0218 / A. A. Secord, K. B. Burdett, K. Owzar [et al.]. – 2020. – Vol. 26. – № 6. – P. 1288-1296.
189. Predictors of pretreatment CA125 at ovarian cancer diagnosis: a pooled analysis in the Ovarian Cancer Association Consortium / A. Babic, D. W. Cramer, L. E. Kelemen [et al.] // *Cancer Causes Control.* – 2018. – Vol. 28. – № 5. – P. 459-468.
190. Preoperative prognostic nutritional index is a powerful predictor of prognosis in patients with stage III ovarian cancer / W. Zhang, B. Ye, W. Liang, Y. Ren // *Scientific Reports.* – 2017. – Vol. 7. – P. 9548.
191. Prichard J. F. Lin and J. Prichard (eds.) *Handbook of Practical Immunohistochemistry: Frequently Asked Questions* / J. Prichard, H. G. Kaspar // Springer Science+Business Media New York. – 2015. – P. 371-395.
192. Primary chemotherapy versus primary surgery for newly diagnosed advanced ovarian cancer ( CHORUS ): an open-label , randomised , controlled , non-inferiority trial / S. Kehoe, J. Hook, M. Nankivell [et al.] // *The Lancet.* – 2015. – Vol. 6736. – № 14. – P. 1-9.
193. Primary debulking surgery for advanced ovarian cancer: Are you a believer or a dissenter? / J. O. Schorge, R. M. Clark, S. I. Lee, R. T. Penson // *Gynecologic Oncology.* – 2014. – Vol. 135. – № 3. – P. 595-605.
194. Prognostic gene expression signature for high-grade serous ovarian cancer / J. Millstein, T. Budden, E. L. Goode [et al.] // *Annals of Oncology.* – 2020. – Vol. 31. – № 9. – P. 1240-1250.
195. Prognostic significance of p53 mutation and p53 overexpression in advanced epithelial ovarian cancer: A Gynecologic Oncology Group Study / L. Havrilesky, K. M. Darcy, H. Hamdan [et al.] //

Journal of Clinical Oncology. – 2003. – Vol. 21. – № 20. – P. 3814-3825.

196. Prognostic Significance of Preoperative Prognostic Nutritional Index in Epithelial Ovarian Cancer Patients Treated with Platinum-Based Chemotherapy / Y. Miao, S. Li, Q. Yan [et al.] // *Oncol Res Treat.* – 2016. – Vol. 39. – P. 712-719.

197. Prognostic significance of the pretreatment prognostic nutritional index in patients with epithelial ovarian cancer / N. Komura, S. Mabuchi, E. Yokoi [et al.] // *Oncotarget.* – 2019. – Vol. 10. – № 38. – P. 3605-3613.

198. Prognostic value of serum and tissue HE4 expression in ovarian cancer: a systematic review with meta-analysis of 90 studies / H. Cao, D. You, Z. Lan [et al.] // *Expert Review of Molecular Diagnostics.* – 2018. – Vol. 0. – № 0.

199. Projected estimates of cancer in Canada in 2020 / D. R. Brenner, H. K. Weir, A. A. Demers [et al.] // *CMAJ.* – 2020. – Vol. 192. – P. 199-205.

200. Prospective validation study of a predictive score for operability of recurrent ovarian cancer: the Multicenter Intergroup Study DESKTOP II. A project of the AGO Kommission OVAR, AGO Study Group, NOGGO, AGO-Austria, and MITO / A. Hasenburg, G. Scambia, D. Cibula [et al.] // *Int J Gynecol Cancer.* – 2011. – Vol. 21. – № 2. – P. 289-295.

201. Randomized trial of primary debulking surgery versus neoadjuvant chemotherapy for advanced epithelial ovarian cancer (SCORPION- - NCT01461850) / A. Fagotti, M. G. Ferrandina, G. Vizzielli [et al.] // *Int J Gynecol Cancer.* – 2020. – Vol. 30. – P. 1657-1664.

202. Relationship between Progression-free Survival and Overall Survival in Randomized Clinical Trials of Targeted and Biologic Agents in Oncology / L. M. Hess, A. Brnabic, O. Mason [et al.] // *Journal of Cancer.* – 2019. – Vol. 10. – № 16. – P. 3717-3727.

203. Remodeling of phospholipid composition in colon cancer cells by  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  and its analogs / C. Leyssens, E. Marien, L. Verlinden [et al.] // *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology.* – 2015. – Vol. 148. – P. 172-178.

204. Risk of complications in patients with conservatively managed ovarian tumours (IOTA5): a 2-year interim analysis of a multicentre, prospective, cohort study / W. Froyman, C. Landolfo, B. De Cock [et al.] // *The Lancet Oncology.* – 2019. – Vol. 20. – № 3. – P. 448-458.

205. RNA in extracellular vesicles / K. M. Kim, K. Abdelmohsen, M. Mustapic, D. Kapogiannis // *Wiley Interdiscip Rev RNA.* – 2017. – Vol. 8. – № 4. – P. 1-20.

206. Role of Surgical Outcome as Prognostic Factor in Advanced Epithelial Ovarian Cancer: A Combined Exploratory Analysis of 3 Prospectively Randomized Phase 3 Multicenter Trials / A. du Bois, A. Reuss, E. Pujade-Lauraine [et al.] // *Cancer.* – 2009. – Vol. 115. – № 6. – P. 1234-44.

207. Saad E. D. Statistical controversies in clinical research: End points other than overall survival are vital for regulatory approval of anticancer agents / E. D. Saad, M. Buyse // *Annals of Oncology.* –

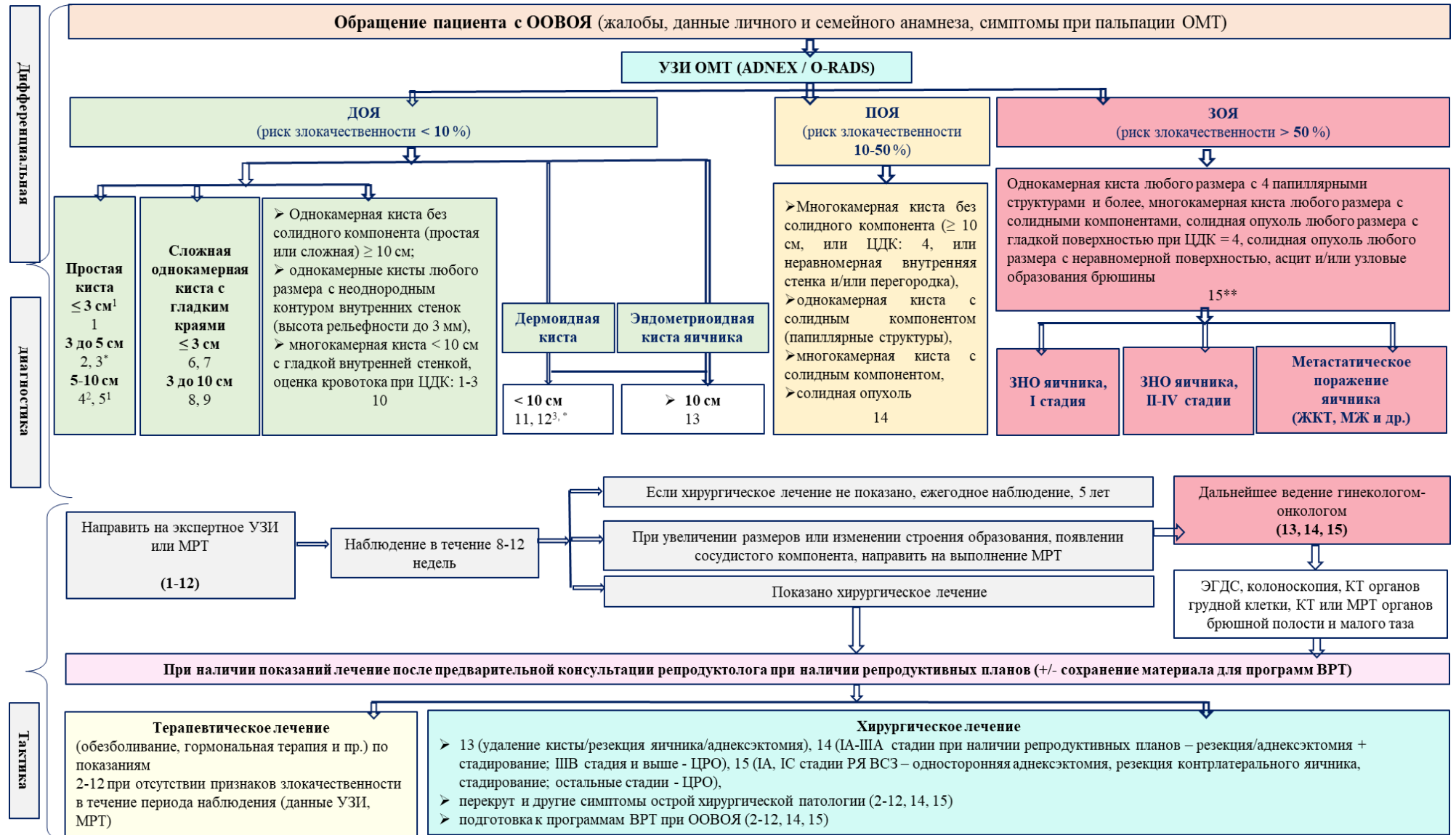
2016. – Vol. 27. – № 3. – P. 373-378.
208. Santis C. De. The Role of microRNA Let-7d in Female Malignancies and Diseases of the Female Reproductive Tract / C. De Santis, M. Götte // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – P. 7359.
209. Schatten H. Ovarian Cancer: Molecular & Diagnostic Imaging and Treatment Strategies, *Advances in Experimental Medicine and Biology* / H. Schatten. – 2021.
210. ScienceDirect Comparison of survival between primary debulking surgery and neoadjuvant chemotherapy for stage III/IV ovarian, tubal and peritoneal cancers in phase III randomised trial / T. Onda, T. Satoh, G. Ogawa, T. Saito // *European Journal of Cancer*. – 2020. – Vol. 130. – P. 114-125.
211. Screening for ovarian cancer US preventive services task force recommendation statement / D. C. Grossman, S. J. Curry, D. K. Owens [et al.] // *JAMA - Journal of the American Medical Association*. – 2018. – Vol. 319. – № 6. – P. 588-594.
212. Secondary Surgical Cytoreduction for Recurrent Ovarian Cancer / R. L. Coleman, N. M. Spirtos, D. Enserro [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2019. – Vol. 381. – № 20. – P. 1929-1939.
213. Serum Albumin as a Predictor of Survival after Interval Debulking Surgery for Advanced Ovarian Cancer (AOC): A Retrospective Study / D. Dai, J. Balega, S. Sundar [et al.] // *Journal of Investigative Surgery*. – 2020. – Vol. 35. – № 2. – P. 426-431.
214. Serum lipidomics analysis of ovariectomized rats under *Curcuma comosa* treatment / N. Vinayavekhin, J. Sueajai, N. Chaihad [et al.] // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2016. – Vol. 192. – P. 273-282.
215. Shah R. Ovarian Serous Cystadenofibroma With Signet Ring-Stromal Cells : Report of 2 Cases / R. Shah, W. G. Mccluggage // *International Journal of Gynecological Pathology*. – 2010. – Vol. 29. – P. 411-414.
216. Siegel R. L. Cancer Statistics , 2020 / R. L. Siegel, K. D. Miller, A. Jemal // *CA Cancer J Clin*. – 2020. – P. 1-24.
217. Simultaneous quantification of serum Multi-Phospholipids as potential biomarkers for differentiating different pathophysiological states of lung, stomach, intestine, and pancreas / Y. Guo, J. Ren, X. Li [et al.] // *Journal of Cancer*. – 2017. – Vol. 8. – № 12. – P. 2191-2204.
218. Slupsky C. M. Urine Metabolite Analysis Offers Potential Early Diagnosis of Ovarian and Breast Cancers / C. M. Slupsky, H. Steed, T. H. Wells. – 2010. – P. 5835-5841.
219. Small RNAome profile from human skeletal muscle: novel miRNAs and their targets associated with cancer cachexia / A. Narasimhan, S. Ghosh, C. Stretch [et al.] // *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. – 2017. – Vol. 8. – P. 405-416.
220. Somatic Tumors Arising in Ovarian Teratomas-Experience from an Oncology Center in South India / I. Nair, R. Anupama, P. Chaya, S. Sarala // *Int J Clin Pathol Diagn*. – 2019. – № 1. – P. 1-5.

221. Stage at diagnosis and ovarian cancer survival: Evidence from the international cancer benchmarking partnership / C. Maringe, S. Walters, J. Butler [et al.] // *Gynecologic Oncology*. – 2012. – Vol. 127. – № 1. – P. 75-82.
222. Staging procedures fail to benefit women with borderline ovarian tumours who want to preserve fertility: a retrospective analysis of 448 cases / N. Li, J. Gou, L. Li [et al.] // *BMC Cancer*. – 2020. – Vol. 20. – P. 769.
223. Stress-Adaptive Response in Ovarian Cancer Drug Resistance: Role of TRAP1 in Oxidative Metabolism-Driven Inflammation. Vol. 108 / M. R. Amoroso, D. S. Matassa, I. Agliarulo [et al.]. – 1. – Elsevier Inc., 2017. – 163-198 p.
224. Subjective assessment versus ultrasound models to diagnose ovarian cancer: A systematic review and meta-analysis / E. M. J. Meys, J. Kaijser, R. F. P. M. Kruitwagen [et al.] // *European Journal of Cancer*. – 2016. – Vol. 58. – P. 17-29.
225. Sugarbaker P. H. Comprehensive management of peritoneal surface malignancy using cytoreductive surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy: the Washington Cancer Institute approach / P. H. Sugarbaker // *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. – 2009. – Vol. 10. – № 12. – P. 1965-1977.
226. Sugarbaker P. H. Preoperative Assessment of Cancer Patients with Peritoneal Metastases for Complete Cytoreduction / P. H. Sugarbaker // *Indian Journal of Surgical Oncology*. – 2016. – Vol. 7. – P. 295-302.
227. Sugarbaker P. H. Surgical Responsibilities in the Management of Peritoneal Carcinomatosis / P. H. Sugarbaker // *Journal of Surgical Oncology*. – 2010. – Vol. 101. – P. 713-724.
228. Suh-burgmann E. The value of Ultrasound Monitoring of Adnexal Masses for early Detection of Ovarian Cancer / E. Suh-burgmann, W. Kinney // *Frontiers in Oncology*. – 2016. – Vol. 6. – P. 1-5.
229. Surrogate endpoints for overall survival in chemotherapy and radiotherapy trials in operable and locally advanced lung cancer: a re-analysis of meta-analyses of individual patients' data / A. Mauguen, J. Pignon, S. Burdett [et al.] // *The Lancet Oncology*. – 2013. – Vol. 14. – № 7. – P. 619-626.
230. Survival outcome and perioperative complication related to neoadjuvant chemotherapy with carboplatin and paclitaxel for advanced ovarian cancer: A systematic review and meta-analysis / H. Machida, H. Tokunaga, K. Matsuo [et al.] // *European Journal of Surgical Oncology*. – 2019.
231. Systematic Review and Meta-Analysis of Correlation of Progression-Free Survival-2 and Overall Survival in Solid Tumors / S. Chowdhury, P. Mainwaring, L. Zhang, S. Mundle // *Frontiers in Oncology*. – 2020. – Vol. 10. – P. 1349.
232. Targeted metabolomic profiling of low and high grade serous epithelial ovarian cancer tissues : a pilot study / G. Garg, A. Yilmaz, P. Kumar [et al.] // *Metabolomics*. – 2018. – Vol. 14. – № 12. – P. 1-13.

233. Taylor D. D. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer / D. D. Taylor, C. Gercel-taylor // *Gynecol Oncol.* – 2008. – Vol. 110. – № 1. – P. 13-21.
234. The diagnostic, prognostic and therapeutic potential of circulating microRNAs in ovarian cancer / H. Aboutalebi, A. Bahrami, A. Soleimani [et al.] // *International Journal of Biochemistry and Cell Biology.* – 2020. – Vol. 124. – P. 105765.
235. The differential expression of miRNAs between ovarian endometrioma and endometriosis-associated ovarian cancer / N. Nakamura, Y. Terai, M. Nunode [et al.] // *Journal of Ovarian Research.* – 2020. – Vol. 5. – P. 1-9.
236. The expression of small RNAs in exosomes of follicular fluid altered in human polycystic ovarian syndrome / J. Hu, T. Tang, Z. Zeng [et al.] // *Peer J.* – 2020. – Vol. 8. – № e8640.
237. The new WHO classification of ovarian , fallopian tube , and primary peritoneal cancer and its clinical implications / I. Meinhold-Heerlein, C. Fotopoulou, P. Harter [et al.] // *Archives of Gynecology and Obstetrics.* – 2016. – Vol. 293. – № 4. – P. 695-700.
238. The preoperative prognostic nutritional index is a predictive and prognostic factor of high-grade serous ovarian cancer / Z. Feng, H. Wen, X. Ju [et al.] // *BMC Cancer.* – 2018. – Vol. 18. – P. 883.
239. The valuable role of measuring serum lipid profile in cancer progression / F. Ghahremanfard, M. Mirmohammadkhani, B. Shahnazari [et al.] // *Oman Medical Journal.* – 2015. – Vol. 30. – № 5. – P. 353-357.
240. Trygg J. Orthogonal projections to latent structures (O-PLS) / J. Trygg, S. Wold // *Journal of Chemometrics.* – 2002. – Vol. 16. – № 3. – P. 119-128.
241. Ueland FR L. A. Serum biomarkers for evaluation of an adnexal mass for epithelial carcinoma of the ovary, fallopian tube, or peritoneum / L. A. Ueland FR // *UpToDate.* – 2016. – P. 1-13.
242. Ultrasound, macroscopic and histological features of malignant ovarian tumors / F. Moro, V. Verdecchia, P. Romeo [et al.] // *International Journal of Gynecological Cancer.* – 2021. – Vol. 31. – № 1. – P. 150-151.
243. Upregulated expression of serum exosomal miR-375 and miR-1307 enhance the diagnostic power of CA125 for ovarian cancer // *Medical and Health Sciences 1112 Oncology and Carcinogenesis* / Y. Y. Su, L. Sun, Z. R. Guo [et al.] // *Journal of Ovarian Research.* – 2019. – Vol. 12. – № 1. – P. 1-9.
244. Use and Effectiveness of Neoadjuvant Chemotherapy for Treatment of Ovarian Cancer / L. A. Meyer, A. M. Cronin, C. C. Sun [et al.]. – 2016. – Vol. 34. – № 32.
245. Valentin L. Comparison of ‘ pattern recognition ’ and logistic regression models for discrimination between benign and malignant pelvic masses : a prospective cross validation / L. Valentin, B. Hagen, S. Tingulstad. – 2001. – P. 357-365.
246. Verhoeven A. Scientific workflow managers in metabolomics: an overview / A. Verhoeven, M. Giera, A. Mayboroda // *Analyst.* – 2020.

247. Viewpoint paper Treatment algorithm in patients with ovarian cancer / I. Vergote, H. Denys, J. De Greve [et al.] // *Facts Views Vis Obgyn.* – 2020. – Vol. 12. – № 3. – P. 227-239.
248. When should Surgery be used for Recurrent Ovarian Carcinoma? / M. Bommert, P. Harter, F. Heitz, A. du Bois // *Clinical Oncology.* – 2018. – Vol. 30. – № 8. – P. 493-497.
249. White M. Ovarian torsion : 10-year perspective Objective : Methods : Results : Conclusion : / M. White, J. Stella // *Emergency Medicine Australasia.* – 2005. – Vol. 17. – P. 231-237.
250. WHO Classification of Tumours Editorial Board. In *Female Genital Tumours*, 5th ed.; International Agency for Research on Cancer: Lyon, France. – 2020. – 31-168 p.
251. Wide spectrum targeted metabolomics identifies potential ovarian cancer biomarkers / S. Plewa, A. Horała, P. Dereziński [et al.] // *Life Sciences.* – 2019. – Vol. 222. – P. 235-244.
252. Wilkinson N. Dataset for histopathological reporting of carcinomas and borderline tumours of the ovaries , fallopian tubes and peritoneum / N. Wilkinson, K. Vroobel, W. G. McCluggage // *The Royal College of Pathologists.* – 2019. – P. 1-50.
253. Wold S. PLS-regression: a basic tool of chemometrics / S. Wold, M. Sjöström, L. Eriksson // *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems.* – 2001. – Vol. 58. – № 2. – P. 109-130.
254. World Endometriosis Research Foundation Endometriosis Phenome and Biobanking Harmonization Project: III. Fluid biospecimen collection, processing, and storage in endometriosis research / N. Rahmioglu, A. Fassbender, A. F. Vitonis [et al.] // *Fertility and Sterility.* – 2014. – Vol. 102. – № 5. – P. 1233-1243.
255. Xu Y. Lysophospholipid signaling in the epithelial ovarian cancer tumor microenvironment / Y. Xu // *Cancers.* – 2018. – Vol. 10. – № 7.
256. Yan F. Lipidomics : a promising cancer biomarker / F. Yan, H. Zhao, Y. Zeng // *Clinical and Translational Medicine.* – 2018. – P. 21-23.
257. Zafari N. A Panel of Plasma miRNAs 199b-3p , 224-5p and Let-7d-3p as Non-Invasive Diagnostic Biomarkers for Endometriosis / N. Zafari, A. M. Tarafdari, P. Izadi // *Reproductive Sciences.* – 2021. – Vol. 28. – P. 991-999.
258. Zhao G. Ovarian Cancer — Why Lipids Matter / G. Zhao, H. Cardenas, D. Matei // *Cancers.* – 2019. – Vol. 11. – P. 1870.

# ПРИЛОЖЕНИЕ А. Алгоритм ведения пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников<sup>1</sup>



<sup>1</sup> – Алгоритм основан на данных действующих клинических рекомендаций Министерства Здравоохранения Российской Федерации ([7], [16]) и заключения Консенсуса международных обществ экспертов ESGO, ISUOG, IOTA и ESGE [84]

**Примечание к ПРИЛОЖЕНИЮ А:**

Предложенный алгоритм основан на данных действующих клинических рекомендаций Министерства Здравоохранения ([7], [16]) и заключения Консенсуса международных обществ экспертов ESGO, ISUOG, IOTA и ESGE [84].

ОМТ – органы малого таза

ЦДК: 1-3 - цветовая шкала (общая субъективная оценка кровотока в стенке и / или внутренних структурах ООВОЯ при применении спектрального режима доплеровского метода позволяет), где: 1 – кровоток отсутствует, 2 – минимальный кровоток, 3 – умеренный кровоток, 4 – выраженный кровоток.

Красным цветом обозначены стрелки к диагностическим этапам.

ЖКТ и МЖ – первичные злокачественные опухоли желудочно-кишечного тракта, молочной железы или других органов

**ООВОЯ:**

- 1 – Простая киста размером  $\leq 3$  см (РВ, МПВ)
- 2 - Простая киста размером от 3 до 5 см (РВ)
- 3 – Простая киста размером от 3 до 5 см (МПВ)
- 4 - Простая киста размером от 5 до 10 см (РВ)
- 5 - Простая киста размером от 5 до 10 см (МПВ)
- 6 - Сложная однокамерная киста с гладкими краями размером  $\leq 3$  см (РВ)
- 7 - Сложная однокамерная киста с гладкими краями размером  $\leq 3$  см (МПВ)
- 8 - Сложная однокамерная киста с гладкими краями размером от 3 до 10 см (РВ)
- 9 - Сложная однокамерная киста с гладкими краями размером от 3 до 10 см (МПВ)
- 10 - Однокамерная киста без солидного компонента (простая или сложная)  $\geq 10$  см; однокамерные кисты любого размера с неоднородным контуром внутренних стенок (высота рельефности до 3 мм), многокамерная киста  $< 10$  см с гладкой внутренней стенкой, оценка кровотока при ЦДК: 1-3 (РВ, МПВ)
- 11 – Тератома или эндометриоидная киста размером  $< 10$  см (РВ)
- 12 – Тератома или эндометриоидная киста размером  $< 10$  см (МПВ)
- 13 - Тератома или эндометриоидная киста размером  $> 10$  см (РВ, МПВ)
- 14 – ПОЯ; многокамерная киста без солидного компонента ( $\geq 10$  см, или ЦДК: 4, или неравномерная внутренняя стенка и/или перегородка), однокамерная киста с солидным компонентом (папиллярные структуры), многокамерная киста с солидным компонентом, солидная опухоль (РВ, МПВ)
- 15 – РЯ НСЗ, РЯ ВСЗ; однокамерная киста любого размера с 4 папиллярными структурами и более, многокамерная киста любого размера с солидными компонентами, солидная опухоль любого размера с гладкой поверхностью при ЦДК = 4, солидная опухоль любого размера с неравномерной поверхностью, асцит и/или узловые образования брюшины (РВ, МПВ)

**Сноски:**

<sup>1</sup> – риск злокачественного процесса в репродуктивном возрасте и пременопаузе до 0,5%, в постменопаузе – до 1,5%

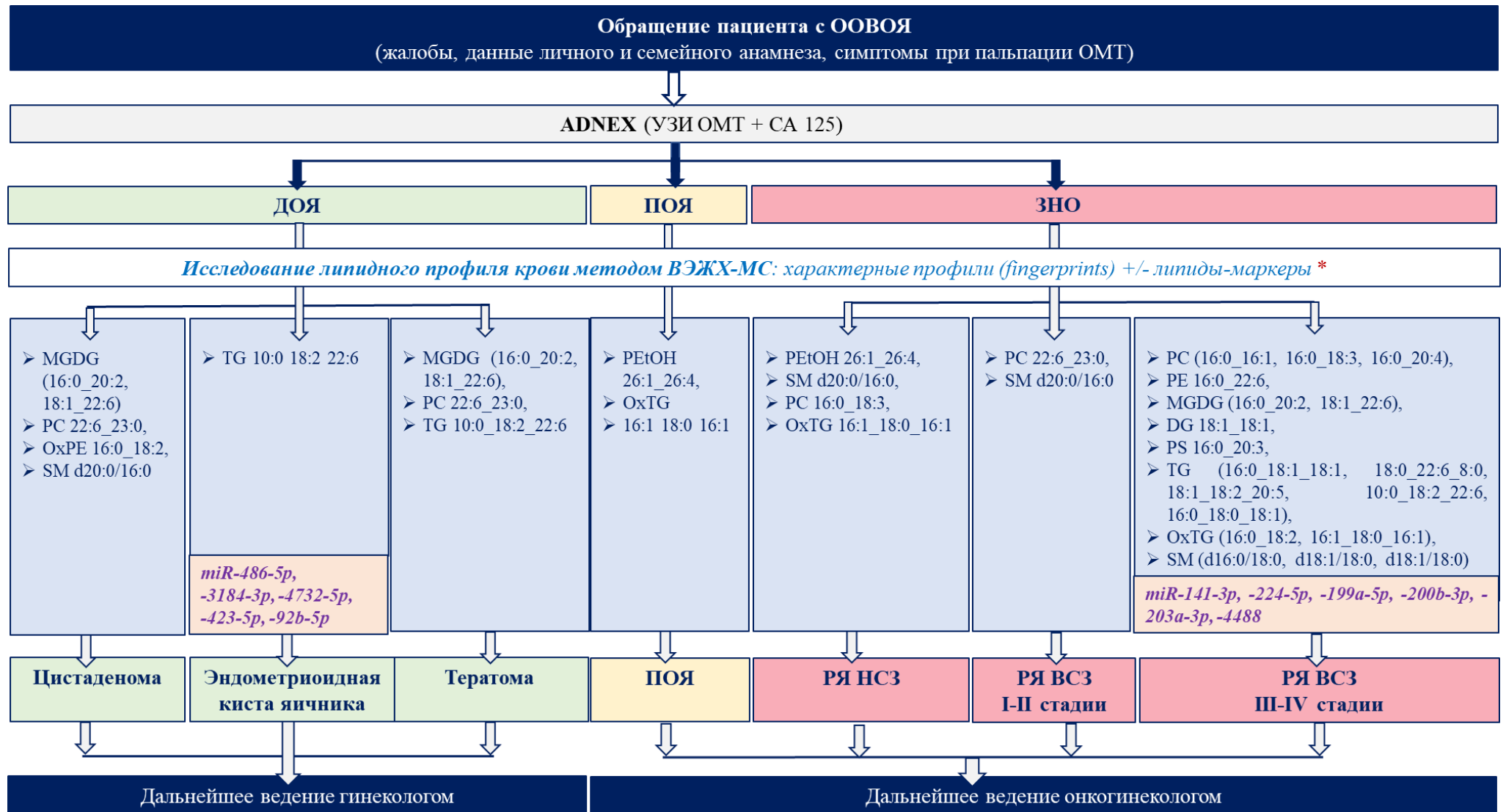
<sup>2</sup> – УЗИ предпочтительно выполнять в пролиферативную фазу цикла,

<sup>3</sup> – риск малигнизации (например, светлоклеточный или эндометриоидный РЯ), сопряженный с эндометриозом у женщин постменопаузального возраста выше, что необходимо учитывать при принятии решения

\* - рекомендовано регулярное наблюдение в течение минимум 1 года, затем при отсутствии изменений или при уменьшении размеров принять решение о возможности ежегодного наблюдения в течение 5 лет,

\*\* - при выявлении асцита, сопутствующего функциональным образованиям яичников (киста желтого тела, фолликулярная киста), требует исключения других злокачественных или доброкачественных состояний, послуживших этиологическим фактором его образования

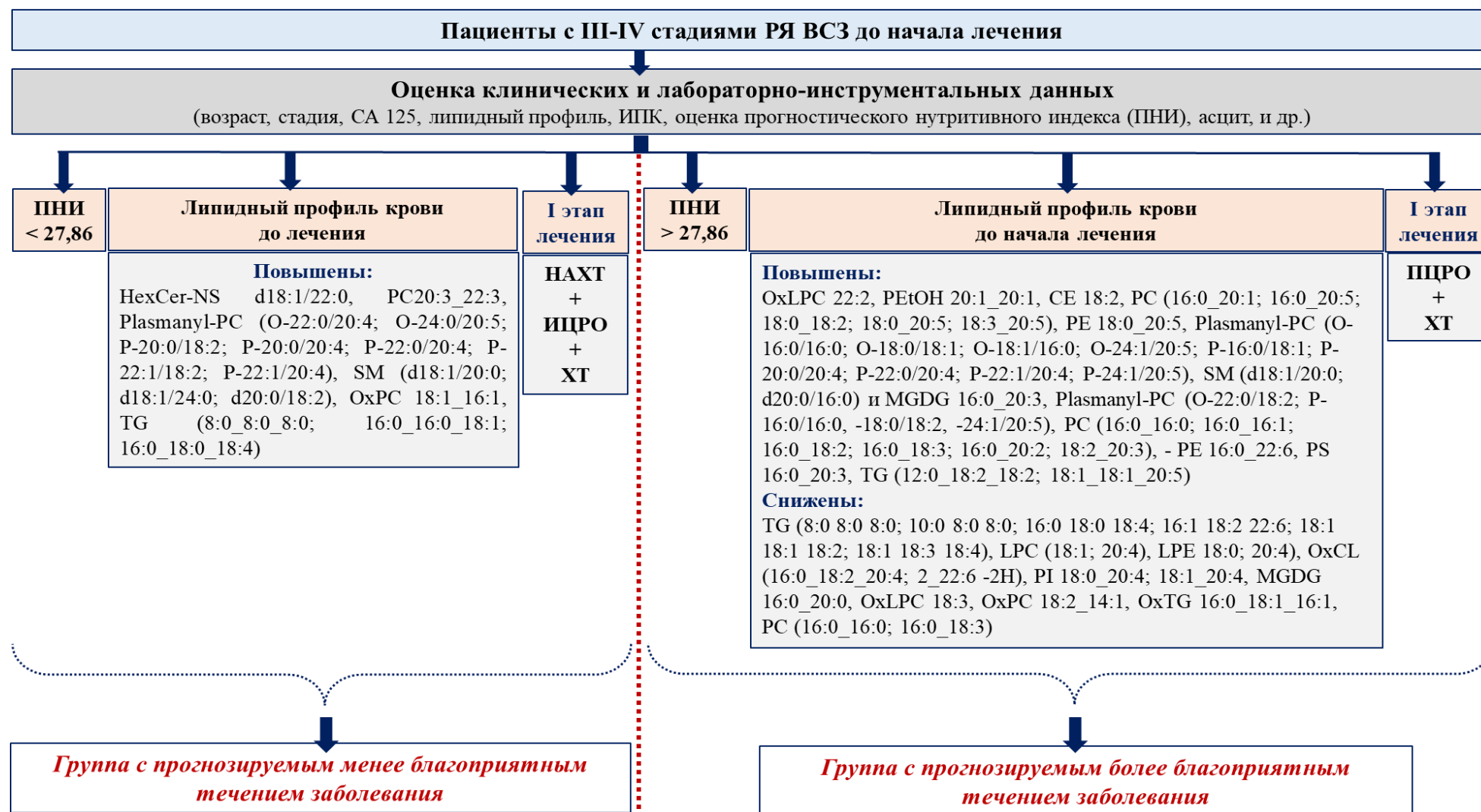
**ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Оптимизация алгоритма ведения пациентов с опухолями и опухолевидными образованиями яичников на основании применения молекулярных маркеров, выявленных при помощи омиксных технологий**



**Примечание к ПРИЛОЖЕНИЮ Б:**

\* - при расхождении данных эхографического и масс-спектрометрического исследований рекомендовано проведение уточняющих методов визуальной диагностики (МРТ, КТ, в частности ПЭТ-КТ, для исключения ЗНО яичников)

**ПРИЛОЖЕНИЕ В. Алгоритм дифференцированного подхода к ведению пациентов с распространенными стадиями серозного рака яичников высокой степени злокачественности**



**Примечание к ПРИЛОЖЕНИЮ В:**

..... - пунктиром обозначено разделение пациентов на группы с прогнозируемым менее и более благоприятным течением заболевания