

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего
образования

«Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского»

Ордена Трудового Красного Знамени

Медицинский институт имени С. И. Георгиевского

На правах рукописи

САЛИЕВА ГЮЗЕЛЬ МУСТАФАЕВНА

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭТИОПАТОГЕНЕЗА
РАКА ЯИЧНИКОВ У ПАЦИЕНТОВ РАЗЛИЧНЫХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУПП
РЕСПУБЛИКИ КРЫМ**

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Фомочкина Ирина Ивановна,

доктор мед. наук, профессор

Симферополь – 2026

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	17
1.1 Наследственные и ненаследственные факторы в патогенезе рака яичников	17
1.2 Особенности функционирования репаративных систем клетки и их вклад в патогенез рака яичников	22
1.3 Структурно-функциональные характеристики генов <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , <i>CHEK2</i> и <i>PALB2</i>	25
1.4 Роль популяционных особенностей полиморфизмов генов <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , <i>CHEK2</i> , <i>PALB2</i> при проведении молекулярно-генетических исследований.....	35
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	42
2.1 Дизайн исследования.....	42
2.2 Методика проведения молекулярно-генетического исследования.....	44
2.2.1 Взятие материала для исследования.....	44
2.2.2 Выделение ДНК из цельной крови.....	45
2.2.3 Методика проведения генотипирования.....	46
2.3 Анализ данных и статистическая обработка данных.....	50
ГЛАВА 3. АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОК С РАКОМ ЯИЧНИКОВ И ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН	53
3.1 Генотипическая структура и патофизиологическое значение выявленных мутаций у пациенток с раком яичника.....	53
3.2 Генотипическая характеристика и молекулярно-биологические особенности здоровых доноров контрольной группы.....	58
3.3 Популяционный анализ и патофизиологическая интерпретация молекулярно-генетических различий.....	58

ГЛАВА 4. ВКЛАД НЕНАСЛЕДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ РИСКА В ФОРМИРОВАНИЕ ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ РАКА ЯИЧНИКОВ.....	64
ГЛАВА 5. КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ РАКА ЯИЧНИКОВ В ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУППАХ.....	72
5.1 Клинико-морфологические особенности рака яичников, ассоциированного с мутациями в исследуемых генах, и их патофизиологическое значение.....	72
5.2 Этнические различия клинико-морфологических характеристик рака яичников.....	87
5.3 Клинико-морфологические особенности рака яичников при спорадических и герминальных мутациях: сравнительный патофизиологический анализ.....	90
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	92
ВЫВОДЫ.....	111
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	113
ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ.....	114
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	116
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	135

ВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности научной темы исследования.

Несмотря на то, что в структуре онкогинекологической заболеваемости рак яичников (РЯ) уступает ведущие места другим онкогинекологическим заболеваниям – раку тела и шейки матки, данная патология является значимой проблемой здравоохранения. Показатели смертности при РЯ остаются высокими из года в год; более того, прослеживается тенденция к увеличению как количества вновь выявленных случаев РЯ, так и смертей от данного заболевания. Так, по данным Международного агентства по изучению рака (GLOBOCAN), в 2022 году по всему миру было зарегистрировано около 324 тыс. новых случаев РЯ (3,4 % от случаев злокачественных новообразований (ЗНО) у женщин) и 206 тыс. летальных случаев в исходе течения РЯ (4,8 % случаев женской онкологической смертности) [1].

Необходимо отметить, что РЯ характеризуется значительной вариабельностью показателей заболеваемости в зависимости от территории проживания и этнической группы. Российская Федерация входит в топ-5 стран с наибольшей заболеваемостью РЯ, уступая Китаю, Индии, США и Индонезии. При этом стандартизированный по возрасту показатель заболеваемости в РФ самый высокий и составляет – 11,5 на 100 тыс. населения [1, 2].

Социальная значимость РЯ подчеркивается также возрастным пиком заболеваемости. Так, общая заболеваемость онкопатологией склонна увеличиваться пропорционально возрасту, достигая максимальных значений к 70 годам. В свою очередь, эпителиальный РЯ считается менопаузальным заболеванием и наиболее часто поражает женщин в возрасте от 45 до 64 лет (около 30 % случаев). В структуре смертности от злокачественных новообразований женской репродуктивной системы РЯ занимает третье место после рака молочной железы (РМЖ) и рака шейки матки; данная тенденция сохраняется и в трудоспособной возрастной группе [1, 3]. Следовательно, РЯ представляет собой крайне гетерогенную и агрессивную патологию, уровень летальности при которой превышает 50 %. Столь неблагоприятный прогноз обусловлен комплексом

факторов: склонностью к бессимптомному или малосимптомному течению вплоть до запущенных стадий, ранним и агрессивным лимфогенным и имплантационным метастазированием в органы брюшной полости и брюшину, развитием резистентности к большинству схем химиотерапии (в том числе на основе производных платины), а также высоким риском возникновения рецидивов после прохождения первичного лечения [4, 5, 6].

Гетерогенная природа рака яичников находит свое отражение в значительном разнообразии его молекулярно-генетических и клинко-морфологических свойств. В соответствии с современной классификацией, выделяют два основных типа данных опухолей. Опухоли первого типа отличаются относительно низкой агрессивностью, характеризуются генетической стабильностью и четко прослеживаемой прогрессией от пограничных форм к злокачественным; ключевую роль в их патогенезе играют мутации в генах *PTEN*, *KRAS* и *BRAF*. Данный тип встречается редко и к нему принято относить высокодифференцированные карциномы низкой степени злокачественности. Опухоли второго типа – быстро прогрессирующие, генетически нестабильные низкодифференцированные серозные карциномы высокой степени злокачественности, развитие которых ассоциировано с инактивирующими мутациями в генах-супрессорах *BRCA1*, *BRCA2* и *TP53* [7, 8, 9, 10].

Также РЯ принято классифицировать на наследственные и спорадические формы, что напрямую связано с типом мутаций: герминальными (зародышевыми) в случае наследственной предрасположенности или соматическими для спорадических случаев, при этом наибольшее значение имеют мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2*, характеризующиеся высокой пенетрантностью. Так, на долю BRCA-ассоциированного рака приходится до 25 % случаев РЯ, из которых более 15 % являются наследственными и около 5 % – спорадическими [8, 11, 12]. Риск развития РЯ в течение жизни у носительниц мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* достигает до 50 % и 30 % соответственно [8, 13, 14].

В последние годы в стратегии борьбы с онкологической заболеваемостью, в том числе РЯ, активно включаются методы молекулярно-генетической

диагностики онкологических заболеваний, результаты которых играют роль не только при выборе терапевтической тактики, но и в ранней диагностике ЗНО. Для опухолей различной локализации и морфологической природы выделены перечни генов, изменение активности которых может запустить или осложнить канцерогенез. В большинстве случаев на основании молекулярно-генетического профиля опухоли осуществляется выбор наиболее эффективной тактики лечения, в том числе – режимы химиотерапии и таргетной терапии. Кроме того, подтверждение носительства герминальной мутации у онкологического пациента является показанием для включения его ближайших родственников в программы активного наблюдения и, при необходимости, проведения комплекса превентивных мероприятий.

Активное внедрение методов молекулярно-генетической диагностики существенно повысило качество медицинской помощи в онкологической практике. Тем не менее, их фактическое применение до сих пор сопряжено с рядом ограничений и трудностей. Наиболее распространенным и доступным методом в этой области продолжает оставаться полимеразная цепная реакция (ПЦР) с применением стандартизированных молекулярно-генетических панелей диагностики, специфичных для разных типов опухолей. Этот метод является удобным, простым, быстрым и более доступным экономически, но в то же время упрощенным и не совсем точным. Как правило, диагностические панели ограничиваются набором наиболее частых в популяции мутаций, что позволяет оценить генетическую вариабельность опухоли лишь в рамках заданного спектра исследуемых маркеров.

Кроме того, перечень мутаций, на носительство которых необходимо тестировать пациентов с онкопатологией утвержден на национальном уровне (клинические рекомендации по диагностике и лечению ЗНО, стандарты и алгоритмы оказания помощи онкологическим больным), однако в большинстве случаев встречаемость мутаций зависит в том числе от географической и этнической принадлежности. Российская Федерация занимает обширную территорию, на которой проживают представители различных этносов, в связи с

чем пренебрежение региональными особенностями канцерогенеза может значительно исказить точность результатов молекулярно-генетических исследований.

Для российских пациенток с РЯ характерен определенный спектр герминальных мутаций, встречающихся наиболее часто. Как показывают многочисленные исследования, среди них преобладают носительницы изменений в гене *BRCA1*: 5382InsC (5266dupC), 4153DelA(4035delA), 185delAG(68_69delAG), 2080delA(1961delA), 3819delGTAAA(3700_3704del), 3875delGTCT (3755_3758del), 300T>G (181T>G, Cys61Gly), а также мутация 6174DelT в гене *BRCA2*. При этом мутация 5382InsC встречается с наибольшей частотой [15, 16]. Хотя данный перечень является основным для молекулярно-генетического скрининга в славянских популяциях, растущее количество научных данных подтверждает актуальность расширения исследований с учетом региональных особенностей канцерогенеза [13, 17, 18].

Результаты молекулярно-генетического скрининга среди коренного населения Дальнего Востока (буряток, тувинок, алтаек) продемонстрировали уникальную особенность – полное отсутствие носительниц патогенных вариантов в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Иная картина наблюдается среди населения Республики Башкортостан, где частота носительства мутации *BRCA1*с.5266dupC не превышала 4 % [17, 19, 20]. Схожая тенденция низкой распространенности характерна и для татарской популяции, где лишь до 1,3 % случаев наследственного РЯ были ассоциированы с мутацией *BRCA1*с.5161C>T, не включенной в панель «горячих точек». При этом вклад «фаундер»-мутации в патогенезе РЯ у татарок значительно ниже [20].

Также несмотря на то, что роль генов *BRCA1* и *BRCA2* в канцерогенезе РЯ доказана и неоспорима, исключить возможность вклада других молекулярно-генетических механизмов в патогенезе РЯ не представляется возможным. На сегодняшний день активно изучается вклад в этиопатогенез РЯ большого количества генов, включая *PALB2*, *BARD1*, *PTEN*, *RAD51*, *TP53*, *MHS*, *CHEK2*, *NBS1* и др. [21, 22, 23, 24]. Отдельно можно выделить в данном контексте ген

CHEK2. В последнее время носители мутаций в этом гене встречаются достаточно часто, однако до сегодняшнего дня единое мнение касательно роли мутаций в гене *CHEK2* в увеличении риска развития РЯ не сформировано [25, 26].

Таким образом, актуальность исследования определяется необходимостью формирования единого представления о молекулярно-генетическом профиле РЯ и других ЗНО в Крыму. Механизмы этиопатогенеза опухолей у крымских пациентов изучены недостаточно несмотря на то, что регион характеризуется уникальным этногенезом и наличием коренной и относительно генетически однородной этнической группы – крымских татар. Также важным является установление корреляции между молекулярно-генетическими и клинико-морфологическими характеристиками РЯ. Изучение и понимание молекулярно-генетических особенностей патогенеза РЯ у крымских пациентов является важным этапом в процессе улучшения качества терапии и превентивных мероприятий, проводимых среди населения полуострова, а интеграция результатов исследования в практическое здравоохранение позволит сделать оказание онкологической помощи в значительной степени более персонализированным.

Цель исследования – установить особенности молекулярно-генетического патогенеза рака яичников в славянской и крымскотатарской популяции Крыма на основе анализа спектра мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PALB2* и их связи с клинико-морфологическими характеристиками заболевания.

Задачи исследования:

1. Определить частоту и спектр мутаций в генах наследственной предрасположенности к раку яичников (*BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PALB2*) у женщин с диагнозом рака яичников и женщин контрольной группы.

2. Проанализировать вклад идентифицированных мутаций в патогенез рака яичников у пациенток различных этнических групп, принадлежащих к славянской и крымскотатарской популяции Республики Крым.

3. Выявить ассоциации между носительством мутаций и ключевыми проявлениями рака яичников (возраст манифестации, гистологический тип, степень дифференцировки, концентрация биохимических онкомаркеров).

4. Провести сравнительный анализ молекулярно-генетических профилей и клинико-морфологических характеристик рака яичников у пациенток славянской и крымскотатарской этнических групп для установления этноспецифичных особенностей патогенеза.

5. Установить особенности молекулярно-генетических механизмов канцерогенеза рака яичников в Крыму в сравнении с другими регионами Российской Федерации.

Научная новизна исследования. Впервые проведен комплексный анализ этнических, возрастных и эпидемиологических особенностей РЯ у крымских пациенток с оценкой их возможной роли в формировании патогенетической и клинико-морфологической гетерогенности заболевания, а также сравнение полученных результатов с общероссийскими тенденциями.

В ходе исследования установлены и детально описаны частотные и качественные характеристики патогенных вариантов в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, идентифицированных с помощью расширенной панели молекулярно-генетического тестирования у пациенток с РЯ и здоровых доноров славянской и крымскотатарской этнических групп, и их вклад в патогенез РЯ. Впервые проведен анализ взаимосвязи между носительством мутаций и клинико-морфологическими характеристиками РЯ в популяции Крыма, а также определено соотношение герминальных и соматических мутаций в исследуемых генах как один из факторов патофизиологической неоднородности заболевания.

Впервые охарактеризованы этиопатогенетические, молекулярно-генетические, клинические и морфологические особенности РЯ у пациенток различных этнических групп Республики Крым в контексте их вклада в патогенез заболевания. Так, молекулярно-генетический профиль РЯ в Крыму обладает уникальными характеристиками: доминирующим вариантом является мутация *BRCA1*c.5266dupC, однако его частота, как и общая частота *BRCA*-ассоциированных форм, оказалась ниже, а частота более редкой мутации *BRCA1*c.4035delA – выше, чем в среднем по Российской Федерации. При этом три «классические» для России мутации *BRCA1* в исследуемой выборке не

обнаружены. Важным открытием стало выявление герминальной мутации *BRCA2*c.3749dupA, не входящей в стандартную диагностическую панели, что наряду с выявленным спектром мутаций свидетельствует о наличии отличительных особенностей молекулярно-генетического патогенеза и обосновывает необходимость адаптации и расширения молекулярно-генетического тестирования для крымского региона. Кроме того, установлен более агрессивный фенотип РЯ у носительниц патогенных мутаций, в частности – преобладание низкодифференцированных серозных карцином. При этом клинко-морфологическая картина заболевания у представительниц основных этнических групп Крыма (крымских татар и славян) статистически не различалась, несмотря на выявленные существенные различия в молекулярно-генетических механизмах патогенеза.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Изучение и анализ спектра и частоты мутаций в генах наследственной предрасположенности к РЯ (*BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PALB2*) у пациенток с диагнозом РЯ, а также у здоровых доноров, позволили охарактеризовать фундаментальные особенности молекулярно-генетического патогенеза заболевания и выявить общие закономерности его биологической природы как в популяции крымских пациенток в целом, так и в отдельных этнических группах региона.

На основании полученных результатов сформулированы и предложены рекомендации по модификации диагностической генетической панели мутаций, используемой при проведении ПЦР-исследований, что позволяет повысить эффективность проводимых МГИ за счет увеличения частоты детекции патогенных вариантов и снижения доли ложноотрицательных результатов при сохранении относительно невысокой стоимости исследования. Определены критерии формирования групп пациенток, для которых применение высокочувствительных методов МГИ является наиболее целесообразным.

Кроме того, на основании анализа вклада ненаследственных факторов риска в патогенез РЯ выделены дополнительные критерии отнесения пациенток к группе повышенного риска, для которой рекомендовано проведение более активного

скрининга с целью ранней диагностики РЯ.

Объект исследования – молекулярно-генетический патогенез РЯ у пациенток различных этнических групп Республики Крым.

Предмет исследования – спектр и частота мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* и *PALB2* у пациенток с РЯ и здоровых доноров, а также вклад наличия носительства различных молекулярно-генетических вариантов в патогенез РЯ и их ассоциацию с клинико-морфологическими особенностями опухолевого процесса.

Материал и методы исследования. Исследование проводилось с 2021 по 2025 год на базе кафедры общей и клинической патофизиологии Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского». Базой для клинической части исследования выбраны: ГБУЗ РК «Крымский республиканский клинический онкологический диспансер имени В. М. Ефетова», Центр клинической онкологии и гематологии, г. Симферополь. Исследование было одобрено на заседании комитета по этике ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» (протокол N 6 от 7 июня 2022 г.; протокол N 7 от 16 октября 2025).

Всего в исследовании приняли участие 220 женщин, 120 из которых составили группу исследования и являлись пациентками с морфологически подтвержденным эпителиальным РЯ, а 100 были включены в контрольную группу и являлись здоровыми женщинами без онкологического семейного анамнеза, сопоставимые по возрасту и менструальной функции, а также этнической принадлежности с женщинами группы исследования.

На первоначальном этапе исследования был произведен ретроспективный анализ первичной медицинской документации участниц исследования и формирование групп.

Молекулярно-генетический анализ на следующем этапе выполнялся методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени. Для этого производился забор материала с последующим использованием набора реагентов «HRR-скрининг», предназначенного для идентификации 16 мутаций в генах наследственной предрасположенности к РЯ и РМЖ: *BRCA1* (с.5266dupС,

c.181T>G, c.5251C>T, c.4035delA, c.5161C>T, c.4675G>A, c.68_69del, c.3700_3704del, c.1961delA), *BRCA2* (c.3749dupA, c.961_962insAA), *CHEK2* (c.470T>C, c.1100delC, c.444+1G>A, c.893_897del), *PALB2* (c.1592delT).

На заключительном этапе проводился анализ результатов, полученных при молекулярно-генетическом исследовании, и сопоставление данных с клинико-морфологическими характеристиками РЯ, сравнение исследуемых групп и статистическая обработка данных с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft, США) и IBM SPSS Statistics (IBM SPSS Statistics, version 23.0, IBM Corp, США).

Основные научные положения, выносимые на защиту:

1. В славянской когорте крымских пациентов патогенез рака яичников ассоциирован с герминальными мутациями в генах *BRCA1* (c.5266dupC, c.4035delA, c.181T>G, c.68_69del) и *BRCA2* (c.3749dupA); в крымскотатарской подгруппе мутации в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PALB2* не были выявлены.

2. Несмотря на высокую частоту встречаемости полиморфного варианта *CHEK2*c.470T>C в исследуемой выборке женщин, полученные данные не подтверждают его статистически значимой вклад в инициацию патогенеза рака яичников как в славянской, так и в крымскотатарской подгруппах.

3. В славянской популяции Крымских пациентов носительство мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* предопределяет агрессивное течение рака яичников, характеризующегося ранней возрастной манифестацией, преобладанием низкодифференцированных серозных и эндометриоидных карцином высокой и умеренной степени злокачественности достоверно более высокими уровнями сывороточных онкомаркеров СА-125 и He4.

Специальность, которой соответствует диссертационная работа. Работа соответствует паспорту научной специальности 3.3.3 Патологическая физиология (медицинские науки), направлениям 1, 2 и 5 паспорта: 1. Исследование особенностей этиологических факторов, вызывающих развитие повреждения, и характера их воздействия на уровне клеток, органов и систем организма. 2. Изучение механизмов развития заболеваний, типовых патологических процессов

и реакций организма на воздействие патогенных факторов, в том числе механизмов формирования патологических систем и нарушений информационного процесса, обуславливающих развитие заболеваний. 5. Изучение факторов, предрасполагающих развитию болезни, их влияние на состояние здоровья до развития болезни и исследование их роли в патогенезе болезни на всем протяжении этого процесса – от состояния предболезни до выздоровления.

Степень достоверности полученных результатов. Уровень достоверности полученных данных, обоснованность выводов и их соответствие поставленным целям исследования обеспечиваются репрезентативным объемом выборки пациенток, корректным методологическим подходом, а также корректными примененными методами статистического анализа. Лабораторная часть исследования выполнена в отделе клинической диагностики и лабораторной генетики Центральной научно-исследовательской лаборатории Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», имеющей лицензию на медицинскую деятельность для данного вида работ и при методическом участии специалистов, имеющих большой опыт. Работа с пациентами с раком яичников является основным профилем клинической работы диссертанта на протяжении более 5 лет в Центре клинической онкологии и гематологии, г. Симферополь и в ГБУЗ РК «Крымский Республиканский онкологический диспансер имени В. М. Ефетова».

О достоверности результатов, обоснованности выводов свидетельствуют: достаточный объем исследований; использование комплекса актуальных лабораторных, морфологических и клинических методов; использование математической обработки и статистического анализа для объективной оценки изменений количественных показателей.

О высокой степени достоверности свидетельствует использование метрологически обеспеченных средств измерительной техники и необходимого современного зарегистрированного оборудования, расходных материалов и реагентов с соблюдением требований для преаналитического и аналитического этапов работ.

Апробация результатов. Материалы и результаты проведенного исследования представлены и обсуждены на следующих научно-практических конференциях и форумах: научно-практическая конференция «Медицинская наука Крыма: от истоков к современности» (г. Симферополь, 22.12.2022); 95-я Всероссийская научно-практическая конференция, посвященная десятилетию науки и технологий в России «Теоретические и практические аспекты современной медицины» (г. Симферополь, 06.04.2023); XXVI Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и здоровье» (г. Санкт-Петербург, 22.04.2023); 9th International Congress of Pathophysiology and 5th Congress of physiological sciences of Serbia with international participation (г. Белград, Сербия 4-7.07.2023); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Фундаментальные исследования в онкологии 2023», ФГБУ «НМИЦ Онкологии» (г. Ростов-на-Дону, 1-2.11.2023); VIII Всероссийская конференция по молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ Онкологии им. Н.Н. Блохина» (г. Москва, 20-22.12.2023); 16-й Всемирный конгресс по воспалению (WCI2024) (г. Квебек, Канада, 21-24.07.2024); VII Международный форум онкологии и радиотерапии «Ради Жизни – For Life» (г. Москва, 16-20.09.2024); «Фундаментальные исследования в онкологии 2024», ФГБУ «НМИЦ Онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Ростов-на-Дону, 24-25.11.2024); XI Междисциплинарный Медицинский форум «Здравоохранение Севастополя» (г. Севастополь, 12-13.03.2025); Научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы акушерства, гинекологии и перинатологии» (г. Судак, 22-23.05.2025); IX Научно-экспертная конференция «Разумовские чтения» (г. Ялта, 18-24.10.2025); Всероссийская научно-практическая конференция «Фундаментальные исследования – базис трансляционной онкологии», ФГБУ «НМИЦ Онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Ростов-на-Дону, 23-24.10.2025). Апробация диссертационного исследования также проведена на совместном заседании сотрудников кафедр общей и клинической патофизиологии, базисной и

клинической фармакологии Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С. И. Георгиевского и кафедры общей биологии и генетики Института биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского» с участием членов диссертационного совета 24.2.318.01.

Внедрение результатов исследования. Отдельные положения, отраженные в исследовании, используются в образовательном процессе студентов и аспирантов кафедры общей и клинической патофизиологии и патологической анатомии с секционным курсом Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», г. Симферополь. Значимые результаты исследования внедрены и используются в диагностической и лечебной практике специалистов ГБУЗ РК «Крымский Республиканский онкологический диспансер имени В. М. Ефетова», г. Симферополь.

Публикации автора по теме диссертации. В рамках выполнения диссертационной работы подготовлено 14 научных публикаций, содержащих ключевые положения и результаты проведенного исследования. 4 статьи опубликованы в рецензируемых изданиях, соответствующих требованиям ВАК к публикации основных результатов диссертационных исследований по специальности 3.3.3. Патологическая физиология; при этом две из них также индексируются в наукометрической базе Scopus. 10 публикаций были включены в сборники научных и научно-практических конференций, форумов, два из которых – международные.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы Ордена Трудового Красного Знамени медицинского института им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», и является частью научно-исследовательской работы кафедры общей и клинической патофизиологии в рамках темы «Алгоритмы молекулярно-генетической диагностики злокачественных новообразований и подходы к их таргетной терапии с применением клеточных и генетических технологий» (FZEG-

2020-0060), 2020-2022 гг., № АААА-А20-120122490026-1, а также «Молекулярные механизмы развития системных и локальных патологических процессов и подходы к их патогенетической коррекции с использованием фармакологических, генетических и клеточных технологий», 2024-2029 гг., № 124022300133-1.

Личный вклад соискателя. Автором проведено изучение отечественной и зарубежной литературы по теме исследования, сформулирована и обоснована актуальность исследования. Автор совместно с научным руководителем разработали дизайн исследования, выбрали методологические подходы. Автором произведен анализ первичной медицинской документации, отбор лиц для участия в исследовании, а также осуществлен забор образцов материала и сформирована база данных; проведены выделение ДНК из полученных образцов и МГИ методом мультиплексной ПЦР в режиме real-time с использованием праймеров для детекции мутаций.

Автором произведен анализ и интерпретация результатов молекулярно-генетического исследования, определена частота искомых мутаций в исследуемых группах, а также проведен анализ ненаследственных факторов риска развития РЯ, клинико-морфологических особенностей РЯ у пациенток разных этнических групп. Все главы данной диссертационной работы написаны автором самостоятельно, совместно с научным руководителем выделены и описаны основные итоги работы, сформулированы выводы и практические рекомендации.

Структура и объем диссертации. Логика и структура диссертации построены в соответствии с поставленными задачами и включают введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, три главы с анализом полученных результатов, их обсуждение, заключение с выводами и практическими рекомендациями, а также список цитируемой литературы и приложения. Текст диссертации изложен на 136 страницах, включает 24 таблицы и 22 рисунка. В библиографический список включено 158 источников, из них 29 на русском и 129 на английском языке.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Наследственные и ненаследственные факторы в патогенезе рака яичников

Современные представления о механизмах канцерогенеза основываются на концепции кумулятивного нарушения регуляции клеточного цикла, обусловленного дисбалансом между двумя функциональными категориями генов: онкогенами и генами-супрессорами опухолевого роста. Ключевым инициирующим событием многоэтапного процесса малигнизации является приобретение активирующих мутаций в протоонкогенах на фоне инактивации генов-онкосупрессоров. Данные молекулярные нарушения приводят к утрате генетической стабильности, неконтролируемому клеточному делению и нарушению механизмов элиминации поврежденных клеток [27, 28].

Несмотря на наличие большого перечня переменных факторов риска развития той или иной онкопатологии, общее и ведущее значение в этиопатогенезе как наследственных, так и спорадических онкологических заболеваний играют молекулярно-генетические изменения.

Гипотеза о существовании наследственных форм злокачественных новообразований впервые была выдвинута Р. Броуа в 1866 году. Объектом его исследования являлась семья его супруги, у которой РМЖ манифестировал в молодом возрасте. Позднее в 1913 году А. Варthin впервые ввел понятие «раковая семья». В своем исследовании он описал 4 случая семейной заболеваемости раком желудка в пяти поколениях [29, 30].

Представления о механизмах канцерогенеза во многом базируются на результатах исследования А. Knudson 1971 года – предложена гипотеза «двух попаданий», согласно которой малигнизация клетки происходит в результате двух последовательных мутационных событий. Первая мутация создает предрасположенность к опухолевой трансформации, но для непосредственного запуска онкогенеза необходимо осуществление второго генетического изменения. Молекулярно-генетические изменения могут происходить как в

герминальных, так и в соматических клетках, и это определяет природу онкологического заболевания – наследственную или соматическую. При наследственной форме первое повреждение наследуется, создавая предрасположенность к развитию онкологического заболевания с самого рождения, чем и объясняется более ранний дебют заболевания в данном случае. В дальнейшем ген *RBI* был классифицирован как первый опухолевый супрессор, что подтвердило ключевую роль аналогичных генов в контроле и подавлении процессов канцерогенеза [31].

РЯ характеризуется выраженной гетерогенностью патогенеза, в частности – молекулярно-генетических механизмов. Основные факторы риска РЯ условно разделяют на наследственные – наличие герминальных мутаций в генах наследственной предрасположенности, и ненаследственные. В свою очередь ненаследственные факторы можно разделить на модифицируемые (проведение заместительной гормональной терапии в постменопаузальном периоде, не реализованная репродуктивная функция, синдром поликистозных яичников в анамнезе, ожирение, курение) и факторы, не поддающиеся модификации (раннее менархе, инкурабельное бесплодие, поздняя менопауза) [32].

Ненаследственные факторы риска, воздействуя на яичники в течение жизни, способны оказывать воздействие на генетический аппарат клетки, вызывая структурные нарушения (индукция мутаций) и функциональные изменения (воздействие на эпигенетические процессы регуляции активности генов), а также способствуют пенетрации уже свершившихся герминальных и соматических мутаций.

Так, рождение трех и более детей при условии полноценной лактации снижают риск развития РЯ на 30-60 % по сравнению с нерожавшими женщинами. Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) повышает риск развития эндометриоидной карциномы яичников. Заместительная гормональная терапия в постменопаузальном периоде увеличивает риск развития серозных и эндометриоидных опухолей. Курение и ожирение (особенно при ИМТ > 40 кг/м²) увеличивают риск развития РЯ до 50 %. Раннее менархе и поздняя менопауза

удлиняют овуляторную активность; каждый дополнительный год овуляторной активности увеличивает риск развития РЯ до 7 % [33, 34, 35, 36].

В контексте генетической предрасположенности в развитии РЯ ведущее значение отводится мутациям в системе генов *BRCA*. Мутации в генах *BRCA1* *BRCA2* играют центральную роль в развитии как наследственных, так и спорадических форм РЯ. Согласно данным исследований, до 95 % наследственного РЯ связаны с патогенными вариантами именно этих генов. Наследование этих мутаций происходит по аутосомно-доминантному типу и отличается высокой пенетрантностью, что обуславливает значительный риск развития заболевания у носительниц. У носителей мутаций в гене *BRCA1* общий кумулятивный риск развития РЯ соответствует 30–40 % к возрасту 70 лет, в то время как носительство мутации в гене *BRCA2* ассоциировано с риском развития РЯ, не превышающим 11-18 %. Наследственный вариант РЯ характеризуется наличием семейного онкологического анамнеза, фенотипической гетерогенностью, ранним возрастом манифестации (до 50 лет), двусторонней локализацией и множественностью поражения [16, 37, 38, 39].

Последующее изучение семейных случаев *BRCA*-негативных РМЖ и РЯ позволило идентифицировать новую группу генов с умеренной и низкой пенетрантностью, ассоциированных с развитием указанных онкопатологий, включая *CHEK2*, *PALB2*, *NBS1*, *PTEN*, *ATM*, *TP53* и др. [21, 40]. Вместе с тем, относительно низкая распространенность ЗНО, связанных с инактивирующими мутациями в этих генах, обуславливает недостаточную изученность их клинико-биологических характеристик и морфологических особенностей. Это обуславливает актуальность детального изучения каждого отдельного случая РЯ, что позволит в дальнейшем разработать рекомендации по диагностике, лечению и сформировать превентивные стратегии для опухолей яичников с различным молекулярно-генетическим профилем [41].

Важно подчеркнуть, что в современной онкологии объем данных, накопленных за последние годы о молекулярно-генетических, клинико-морфологических и биологических особенностях РЯ, стал основой для разработки

принципиально новой молекулярно-биологической классификации данного заболевания (таблица 1).

Таблица 1 – Современная классификация опухолей яичников [10, 42, 43]

Критерий	Опухоли I типа	Опухоли II типа
Доля от всех случаев	25-30%	70-75%
Основная характеристика	Медленно растущие, низкой степени злокачественности	Агрессивные, высокой степени злокачественности
Типичное течение	Развивается из предшествующих образований, долго ограничен яичником.	«Возникает de novo» – часто без предшествующих стадий, быстро распространяется.
Стадия при диагностике	Чаще ранняя (I-II)	Чаще поздняя (III-IV)
Степень злокачественности	G1-G2	G3
Гистологические типы	Серозная и эндометриоидная низкой степени злокачественности, муцинозная, светлоклеточная, Бреннера	Высокозлокачественная серозная и эндометриоидная карцинома, карциносаркома, недифференцированная карцинома
Молекулярные маркеры	Мутации: KRAS, BRAF, PTEN, CTNNB1, ARID1A Стабильный геном (CIN-low)	Мутация TP53 Дефекты репарации ДНК (например, мутации BRCA1/2) Высокая хромосомная нестабильность (CIN-high)
Прогноз	Относительно благоприятный	Неблагоприятный
Чувствительность к химиотерапии	Относительно низкая	Высокая (изначально), но часто развивается резистентность

Также на сегодняшний день все больше внимания уделяется изучению роли эпигенетических изменений в процессе канцерогенеза. Нарушение баланса в системе онкогены-онкосупрессоры возможно не только при непосредственном

изменение структуры гены, но и при патологическом изменении его регуляции. В таких случаях молекулярно-генетические исследования, основанные на идентификации изменений в нуклеотидной последовательности или других структурных нарушениях, будут демонстрировать отрицательный результат.

В настоящее время наиболее изучена роль гиперметилирования промоторов генов-супрессоров опухолевого роста в патогенезе РЯ. В физиологических условиях промоторная зона онкосупрессоров свободна, что является важным условием обеспечения транскрипторной активности гена. В процессе опухолевой трансформации паттерны метилирования меняются, в результате чего происходит присоединение метильных групп к цитозиновым основаниям в составе цитозин-гуанин-динуклеотидов в промоторах онкосупрессоров с участием метилтрансфераз. В результате происходит ингибирование транскрипции гиперметилированного гена. При этом также наблюдается общее гипометилирование генома, которое, в свою очередь, может включать в работу гены, неактивные в физиологических условиях [44].

При этом не существует единой точки зрения касательно факторов, приводящих к стойкому нарушению паттернов метилирования в клетке, однако считается, что эти процессы связаны с изменением активности метилтрансфераз, которое может быть связано с целым спектром экзогенных и эндогенных факторов. Важно отметить, что изменение статуса метилирования развиваются и накапливаются намного раньше непосредственной опухолевой трансформации клетки. Благодаря данному свойству изучение паттернов метилирования клетки может стать перспективным методом ранней молекулярно-генетической диагностики онкологических заболеваний [16, 45, 46].

Хотя в данной области накоплен значительный объем данных, многие сайты и паттерны метилирования генов, играющих ключевую роль в патогенезе РЯ, описаны лишь в ограниченном числе исследований. Кроме того, до сих пор не выяснены механизмы передачи аномального метилирования в поколениях клеток. Так, особенности эпигенетической регуляции генов *BRCA2*, *CHEK2* и *PALB2* в настоящее время не изучены. Вместе с тем существуют и хорошо изученные гены,

такие как *RASSF1*, *BRCA1* и гены семейства *HOX*.

Например, аномальное гиперметилирование промотора гена *RASSF1A* выявляется у 30-80 % пациенток с РЯ. Гиперметилирование промоторной зоны гена *BRCA1* так же имеет важное значение, однако его частота сильно различается в разных исследованиях. Эти расхождения данных, вероятно, связаны с отсутствием стандартизированных методов выявления эпигенетических изменений, что подчеркивает необходимость дальнейшего углубленного изучения данной проблемы [46].

Таким образом, молекулярно-генетические основы патогенеза РЯ высоко гетерогенны и вариабельны и включают множество механизмов и изменений большого спектра генов, изучение каждого из которых позволит сформировать полноценное понимание особенностей течения РЯ.

1.2 Особенности функционирования репаративных систем клетки и их вклад в патогенез рака яичников

Клеточный геном находится в непрерывном динамическом процессе, интенсивность которого изменяется по мере прохождения клеткой клеточного цикла. Выполняя свои основные функции – транскрипцию, трансляцию и репликацию, ДНК подвержена возникновению спонтанных ошибок – включение неправильных нуклеотидов в цепь при репликации, формирование межцепочечных сшивок и др. Помимо этого возможно возникновение повреждений под воздействием экзогенных факторов – ионизирующее и ультрафиолетовое излучение, действие химических канцерогенов и других факторов, которые приводят к нарушению целостности генома (одно- и двуцепочечные разрывы ДНК) [47].

При условии исправной работы систем репарации повреждений ДНК в клетке при идентификации повреждения и/или неточностей репликации клеточный цикл останавливается в ближайшей точке контроля при переходе от одной фазы цикла к другой, происходит исправление ошибок или репарация повреждения и повторный запуск цикла. В случаях, когда репарация происходит

неполноценно или неудачно, белки системы репарации способны запускать апоптоз, предотвращая таким образом дальнейшее функционирование и пролиферацию клетки с нарушенной стабильностью и целостностью генетического аппарата [48]. Когда функционирование репаративных систем нарушено, ошибки и повреждения накапливаются, приводя к запуску канцерогенеза [49].

В клетке функционирует несколько систем репарации, запуск которых определяется типом произошедшего в геноме нарушения. Большинство повреждений требуют активации сложного многоступенчатого ферментативного процесса репарации, однако в случае небольших ошибок/повреждений могут быть исправлены с помощью более простых механизмов (таблица 2).

Таблица 2 – Основные репаративные системы клетки [48]

Тип повреждения	Репаративная система
Мононуклеотидное повреждение	Система эксцизионной репарации оснований PARP-механизм
Полинуклеотидное повреждение	Система эксцизионной репарации нуклеотидов
Ошибки репликации	Система коррекции ошибочно спаренных оснований (mismatch repair, MMR)
Разрывы ДНК	Система гомологичной рекомбинации (homologous recombination, HR) Система негомологичного сшивания концов (non-homologous end joining, NHEJ)

Гены *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* и *PALB2* являются важнейшими функциональными единицами в системе гомологичной рекомбинации двухцепочечных разрывов (ДЦР) ДНК (рисунок 1).

ДЦР является наиболее опасным повреждением с точки зрения мутагенного потенциала. При обнаружении ДЦР клетка немедленно приостанавливает цикл в текущей фазе до восстановления повреждения. Далее происходит инициация одной из двух систем репарации – гомологичная рекомбинация или

негомологичное сшивание концов. Запуск репарации происходит после распознавания повреждения и передачи информации через соответствующие сигнальные белки (Ku70/Ku80 и MRN для негомологичного механизма и для гомологичной рекомбинации соответственно) [50].



Рисунок 1 – Схематичное изображение функционирования белков HR [16]

Негомологичное соединение концов представляет собой относительно простой путь репарации, в ходе которого разорванные концы молекулы ДНК лигируются напрямую, без необходимости использования гомологичной матрицы или сложной ферментативной обработки. При NHEJ часто происходит потеря нуклеотидных последовательностей в точке разрыва. В отличие от негомологичного сшивания, при запуске гомологичной рекомбинации происходит полное и точное восстановление утраченного фрагмента за счет использования гомологичной сестринской хроматиды, что позволяет полностью сохранить генетическую информацию. Хотя HR является более точным и предпочтительным методом репарации, его включение возможно только в фазах S и G2 клеточного

цикла, когда доступна сестринская хроматида, в отличие от NHEJ может быть инициирована вне зависимости от фазы клеточного цикла [50].

При возникновении повреждений ДНК в S- или G2-фазах клеточного цикла, они одновременно детектируются двумя сигнальными путями, активирующими как систему гомологичной рекомбинации, так и механизм негомологичного соединения концов. Тем не менее, на последующих этапах репарации происходит ингибирование NHEJ-пути для обеспечения приоритета более точного механизма гомологичной рекомбинации. В систему HR входит большое количество белков и генов, функционально связанных друг с другом. При формировании патологии этих генов происходит нарушение процесса гомологичной рекомбинации и смещение преимущества в сторону NHEJ, что, в конечном итоге, приводит к нарушению целостности генома и запуску канцерогенеза [51].

1.3 Структурно-функциональные характеристики генов *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* и *PALB2*

Нарушение транскрипционной активности гена *BRCA1* является одним из ключевых механизмов инициации и промоции канцерогенеза при РЯ и РМЖ в мировой популяции. Группа ученых во главе с Hall исследовали 23 семей с подозрением на наследственный РМЖ и в 1990 году впервые установили, что частым молекулярно-генетическим изменением в исследуемой группе являлись мутации в хромосомном локусе 17q21. Они также описали гены, локализованные в области 17q, которые потенциально могут иметь решающее значение при РМЖ: *HER2*, *EDHB17*, *HOX2*, *NM23*, *RARA* и *WNT3* [52].

Дальнейшие исследования подтвердили связь мутаций в области 17 хромосомы с развитием РМЖ и РЯ. В 1994 году впервые был идентифицирован и описан ген *BRCA1*. Позднее с помощью метода позиционного клонирования была подтверждена локализация данного гена на длинном плече 17 хромосомы, локус 17q21.3. В последствие было установлено, что нарушение экспрессии *BRCA1* обнаруживается не только при наследственном, но и при спорадическом РМЖ и РЯ [53, 54].

BRCA1 относится к категории классических генов-супрессоров опухолевого роста, и его структура включает 24 экзонных последовательностей. Кодирующую функцию выполняют 22 экзона, тогда как оставшиеся 2 являются некодирующими регионами. Транскрипция данного гена приводит к образованию ядерного фосфопротеина, состоящего из 1863 аминокислотных остатка. Основные биологические функции этого белка связаны с поддержанием геномной стабильности через репарацию ДЦР путем гомологичной рекомбинации, а также через своевременный запуск апоптоза клетки [52, 53, 54].

Белок-продукт экспрессии гена *BRCA1* реализует свою функцию как в цитоплазматическом, так и ядерном компартментах клетки, взаимодействуя с сигнальными молекулами, белками-мессенджерами сигнальных путей, а также с другими белками-супрессорами опухолевого роста – RAD50/51, BARD1, NBS, BRCA2 и др. В совокупности они образуют BASC – BRCA1-ассоциированный комплекс поддержания геномной стабильности (BRCA1-associated genome surveillance complex), который играет ключевую роль в репарации ДЦР путем гомологичной рекомбинации. Такая функциональная активность и специфичность определяется, прежде всего, структурой белка и наличием большого спектра функциональных доменов: N-концевой RING-домен, сигналы ядерного экспорта (NES) и локализации (NLS), сериновый кластерный домен (SCD), coiled-coil домен, C-концевой BRCT-домен (рисунок 2) [52].

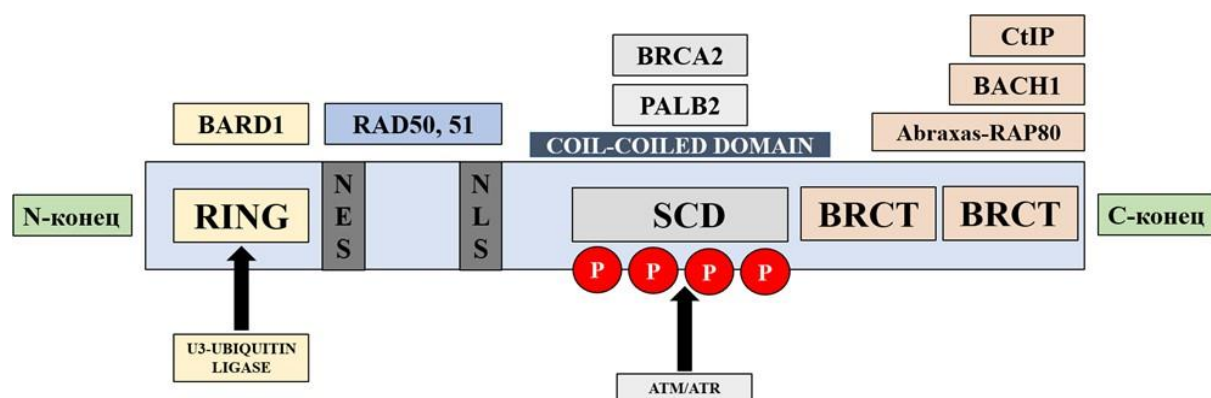


Рисунок 2 – Схематичное изображение строения белка BRCA1 с указанием основных функциональных доменов и объектов их взаимодействия

Комплекс активирует сигнальные протеинкиназы ATM/ATR, которые осуществляют передачу сигнала на BRCA1 и CHK2, останавливая клеточный цикл через ATM-CHK2 и ингибируя путь нехомологичной рекомбинации.

Возникновение ДЦР регистрируется сигнальными системами, когда к концам нитей ДНК в месте разрыва присоединяется комплекс MRN (белки Mre11-RAD50- Nbs1).

Существенную роль в данном механизме играет SCD-домен белка BRCA1, обеспечивающий сайт-специфичное фосфорилирование молекулы под действием сигнальных протеинкиназ. Данный посттрансляционный механизм регуляции приводит к активации BRCA1 и его селективной концентрации в участках повреждения ДНК. Кроме того, BRCA1 протеин подавляет функцию p53-связывающего белка 1, предотвращая нежелательное нехомологичное соединение концов и обеспечить преимущественное использование точного HR-пути восстановления повреждений ДНК [51, 55, 56].

BRCT-домен опосредует формирование многочисленных функциональных белковых комплексов, критически важных для репаративных процессов. Для поддержания точной гомологичной рекомбинации при ДЦР наибольшее значение играют три комплекса – BRCA1 A, B, C (таблица 3) [56, 57].

RING-домен (really interesting new gene) обеспечивает взаимодействие BRCA1 с аналогичным доменом белка BARD1. Формируемый при этом гетеродимерный комплекс выполняет две важнейшие функции: поддержание стабильности молекулы BRCA1 и связывание с ферментами убиквитинирования. Способность комплекса выступать в роли убиквитинлигазы критическую роль в процессе убиквитин-зависимого протеолиза, основными мишенями которого служат гистоны, тубулин и другие белки.

Дефекты комплекса BRCA1-BARD1 приводят к быстрой дестабилизации BRCA1 и утрате им функциональной активности [51, 56, 58].

RING-домен белка BRCA1 обеспечивает его взаимодействие с аналогичным доменом белка BARD1. Формируемый при этом гетеродимерный комплекс BRCA1-BARD1 выполняет две важнейшие функции: поддержание стабильности

молекулы BRCA1 и связывание с ферментами убиквитинирования. Дефекты образования данного комплекса приводят к быстрой деградации BRCA1 [58]. Особое значение эта функция BRCA1 имеет для регуляции центромерного аппарата. На начальных стадиях клеточного цикла комплекс BRCA1-BARD1 инициирует формирование центромер, а на поздних – ингибирует их избыточную пролиферацию. Такой двунаправленный контроль позволяет избежать дефектов в образовании веретена деления и развития анеуплоидии [59, 60, 61].

Таблица 3 – Компоненты и значение белковых комплексов BRCA1

Комплекс	Белки	Функции
BRCA1 A	Abraxas- RAP80	Подавление гиперактивации HR через супрессию избыточной миграции белков-онкосупрессоров к точке повреждения
BRCA1 B	BACH1	Поддержание стабильности белка RAD51 в зоне повреждения, для обеспечения длительного контакта места разрыва с сестринской хроматидой, блок клеточного цикла в G1/S, организация репарационного комплекса
BRCA1 C	CtIP	Рекрутинг белка RPA, стабилизирующего ДНК в развернутом состоянии, блок клеточного цикла в G2/M с последующей заменой RPA на RAD51

Еще один важный белковый комплекс, содержащий BRCA1, образуется за счет взаимодействия через его coiled-coil домен. В состав данного комплекса входят протеины BRCA1, PALB2 и BRCA2, которые совместно обеспечивают восстановление двуцепочечных разрывов ДНК посредством механизма гомологичной рекомбинации [62, 63].

Таким образом, ген *BRCA1* играет ключевую роль в поддержании фундаментальных клеточных процессов, контролируя клеточный цикл, восстанавливая целостность ДНК при повреждениях, обеспечивая формирование

физиологического веретена деления и своевременно инициируя апоптоз патологических клеток. Для клеток с нарушенной функцией *BRCA1* характерно нарушение всех вышеперечисленных процессов.

Параллельно с открытием гена *BRCA1* в 1994 году, в ходе исследований случаев рака грудной железы у мужчин был идентифицирован другой ассоциированный с заболеванием ген – *BRCA2*. Научные данные продемонстрировали, что развитие мужского рака грудной железы с небольшой вероятностью может быть связано с мутациями в гене *BRCA1*. Последующие исследования и позволили обнаружить второй предрасполагающий ген, локализованный в локусе 13q12.3 на длинном плече 13-й хромосомы [64].

Ген *BRCA2*, также относящийся к классу опухолевых супрессоров, характеризуется сложной структурой, включающей 27 экзонных последовательностей, 26 из которых выполняют кодирующую функцию. В результате экспрессии этого гена синтезируется крупный белок, в состав которого включены 3418 аминокислотных остатков. Наравне с *BRCA1*, этот белок участвует в репаративных процессах, включаясь в гомологичную рекомбинацию [65, 66].

Несмотря на то, что *BRCA1* и *BRCA2* условно объединены в одну группу, можно выделить ряд отличий между этими генами и их белками. В отличие от полифункционального белка *BRCA1*, биологическая роль *BRCA2* преимущественно ограничена непосредственной регуляцией процесса гомологичной рекомбинации через рекрутинг и стабилизацию белка *RAD51*. Кроме того, *BRCA2* функционирует строго в ядерном компартменте, что обусловлено наличием сигнальных последовательностей *NLS* и отсутствием *NES* (рисунок 3).

В начальном участке *BRCA2* (N-конец) располагается специфический домен, ответственный за поддержание контакта с белком *PALB2* (связывание по 21-39 аминокислотным остаткам). Комплекс *BRCA2-PALB2* ответственен за обеспечение стабильной связи с *BRCA1* и *RAD51*, а также транспорт *BRCA2* к точке повреждения [67].

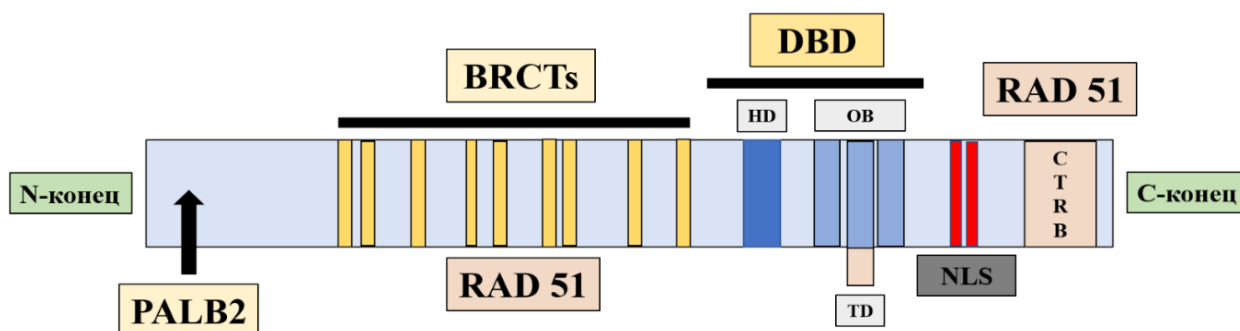


Рисунок 3 – Схематичное изображение строения белка BRCA2 с указанием основных функциональных доменов и объектов их взаимодействия

В центральной части молекулы расположена зона, принимающая участие в формировании рекомбинационного комплекса совместно с белками RAD51 и ДНК-мейотической рекомбиназой 1 (Dmc1). Домен содержит 8 консервативных повторов, каждый из которых состоит из 38 аминокислотных остатков [14].

Комплекс BRCA2-RAD51-Dmc1 необходим для поиска гомологичной матрицы и точного восстановления поврежденной цепи. Этот процесс происходит уже после формирования репарационного фокуса с помощью BRCA1. Первоначально происходит обработка поврежденной ДНК с образованием одноцепочечного участка, который временно защищается белком RPA. В последующем эту зону занимает комплекс BRCA2-RAD51-Dmc1 [68].

Непосредственное взаимодействие с цепями ДНК и обеспечение доступа для белка RAD51 опосредуется специализированным ДНК-связывающим доменом, обладающим пятикомпонентной архитектурой: α -спиральный домен (H); 3 олигонуклеотид-связывающих мотива (OB-фолды), ответственные за распознавание одноцепочечной ДНК; а также башенный домен (TD), который отходит от OB2 и специфически связывает двуцепочечную ДНК [62].

Конечная часть BRCA2 содержит дополнительный сайт связывания белка RAD51 – С-терминальный регуляторный домен, а также сигнал ядерной локализации (NLS) и сайт фосфорилирования циклин-зависимой киназы (CDK) [69].

Таким образом, в механизме гомологичной рекомбинации BRCA2

выполняет функцию специфичного шаперона, обеспечивая направленный транспорт белка RAD51 к сайтам повреждения ДНК и защищая его от нуклеолитической деградации, поддерживая тем самым процесс репарации посредством матричного синтеза. Примечательно, что хотя RAD51 сохраняет способность к самостоятельному связыванию с ДНК, отсутствие кофакторной поддержки со стороны BRCA2 существенно снижает как общую эффективность рекомбинации, так и точность восстановления генетического материала [69, 70].

Ген *PALB2* (Partner and localizer of *BRCA2*), локализованный в локусе 16p12.2, содержит 13 экзонов и кодирует полипептидную цепь длиной в 1186 аминокислотных остатков. Данный ген был впервые обнаружен и охарактеризован в 2006 году. Название ген получил в связи с его синергичным взаимодействием с геном *BRCA2*, которое было обнаружено в ходе проводимого исследования [71, 72].

В гомологичной рекомбинации *PALB2* исполняет координационную функцию, взаимодействуя с большим количеством других белков системы репарации. В строении данного белка также выделяют несколько функциональных зон (рисунок 4).

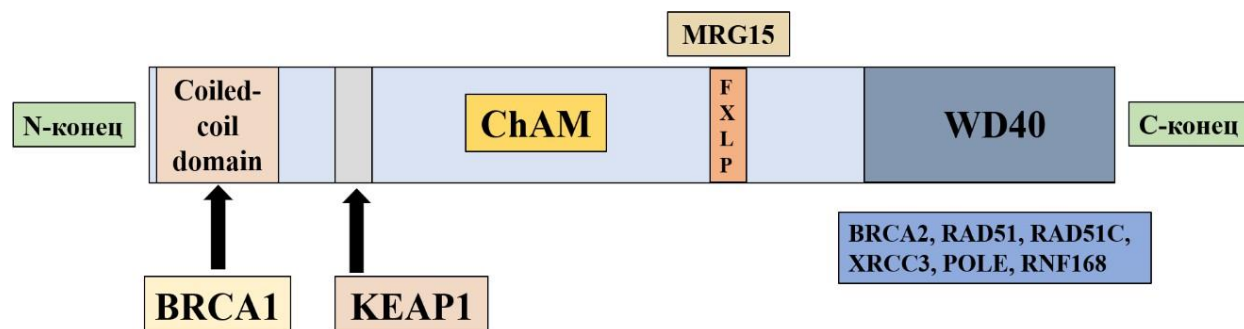


Рисунок 4 – Схематичное изображение строения белка *PALB2* с указанием основных функциональных доменов и объектов их взаимодействия

Взаимодействие *PALB2* и *BRCA1* осуществляется через соответствующие coiled-coil домены обоих белков. Это взаимодействие необходимо для сборки главного репаративного комплекса BRCA (*BRCA1-PALB2-BRCA2-RAD51*) на поврежденной цепи.

Кроме того, комплекс BRCA1-PALB2 выполняет дополнительную регуляторную функцию, подавляя альтернативные механизмы репарации и направляя процесс восстановления повреждения по пути гомологичной рекомбинации. Исследования показали, что для PALB2-дефицитных клеток характерна гиперактивация репарации путем одноцепочечного отжига, что приводит к утере части информации и повышению риска опухолевой трансформации клетки [27, 28, 73, 74].

Высококонсервативный мотив LDEETGE обеспечивает специфическое взаимодействие с белком KEAP1, являющимся центральным регулятором оксидативного стресса. PALB2 функционирует как конкурентный ингибитор KEAP1, что приводит к снижению уровня окислительного стресса. Экспериментальные данные демонстрируют повышенную устойчивость к оксидативному повреждению в клетках с нормальной экспрессией PALB2 по сравнению с PALB2-дефицитными клеточными линиями [75, 76].

Центральный домен состоит из двух функциональных зон: хроматин-связывающий и FLXP-мотив, основная функция которых заключается в регуляции транскрипционных процессов, реорганизации хроматина в процессе гомологичной рекомбинации для обеспечения полного доступа к ДНК, посттрансляционных модификациях гистонов, а также поддержании стабильности хроматина [69, 77, 78, 79, 80, 81].

Необходимо отметить, сигнальную функцию PALB2 и способность запускать репарацию ДЦР через гомологичный механизм без участия BRCA1. Образую комплекс с белком NF16, PALB2 непосредственно включает процесс HR. Этот путь является резервным и менее эффективным по сравнению с BRCA1-ассоциированной инициацией, однако он играет важную адаптивную роль и позволяет в течение определенного времени поддерживать целостность и стабильность генома даже в условиях инактивации *BRCA1* [63, 82, 83, 84].

Также исследования Menzel et al. выявили ключевую роль PALB2 в контроле перехода клеточного цикла в точку между постсинтетической фазой и митозом. Снижение экспрессии *PALB2* ведет к преждевременному выходу из

постсинтетической фазы до контроля правильности репликации и устранения критических ошибок [3, 85].

Таким образом, функциональная активность гена *PALB2* не ограничивается исключительно непосредственным участием в репаративных процессах, но также включает общую регуляцию клеточного цикла, снижение интенсивности оксидативного стресса и свободно-радикальной активности, а также поддержание стабильности хроматина.

CHEK2 – ген, локализованный в хромосомной области 22q12.1 и содержащий 14 экзонных последовательностей, классифицируется как опухолевый супрессор. *CHEK2* кодирует серин-треониновую киназу (Checkpoint-kinase 2, Chk2), которая функционирует как ключевой ядерный сигнальный медиатор. Активация Chk2 происходит в ответ на повреждение ДНК, в последствие именно Chk2 инициирует репарацию путем гомологичной рекомбинации [44, 86, 87].

Впервые мутации в гене *CHEK2* упоминаются в качестве этиологического фактора наследственного рака в работе Bell и коллег. В процессе изучения семей с наследственным синдромом Ли-Фраумени были идентифицированы 3 различные мутации гена *CHEK2*, которые, вероятно, послужили причиной развития заболевания [88].

В структуре белка Chk2 так же можно выделить домены, играющие ключевую роль в реализации функций данного белка (рисунок 5).

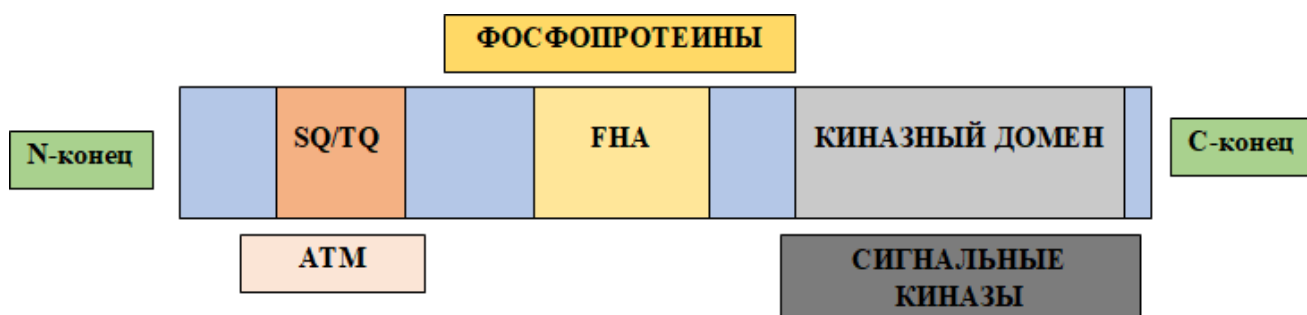


Рисунок 5 – Схематичное изображение строения белка Chk2 с указанием основных функциональных доменов и объектов их взаимодействия

В архитектуре N-концевой части важнейшим является кластерный домен

SQ/TQ, основное значение которого заключается в обеспечении межкиназных контактов (ATM и Chk2). Образование этого сигнального комплекса является условием запуска гомологичной рекомбинации при повреждении ДНК [86, 89].

FHA (fork head-associated) область отвечает за инициацию и передачу внутриклеточных сигналов путём обеспечения контакта между Chk2 и другими белками-мессенджерами. Также FHA функционирует как внутримолекулярный регулятор самого протеина, контролируя активность серин-треониновой киназы [90].

Каталитическая активность осуществляется посредством серин-треонинового киназного домена, локализованного в С-концевом регионе белковой молекулы. Указанный домен демонстрирует значительную степень гомологии с другими представителями семейства сигнальных киназ, что является критически важным для обеспечения стабильных межмолекулярных взаимодействий [86, 89, 90].

Киназа Chk2 обладает ключевым значением в сигнальных клеточных путях, инициируемых при нарушении целостности и стабильности генома. Chk2 выступает посредником между эффекторными молекулами сигнальных путей, регулируя их запуск, направление или остановку. Процесс активации молекулы – это сложный, динамический процесс, который первично запускается через фосфорилирование в N-терминальной зоне при участии ATM. Активированная киназа проходит через нуклеоплазму, передавая сигнал о произошедшем повреждении непосредственно на регуляторные молекулы клеточного цикла (циклины, циклин-зависимые киназы), транскрипционные факторы, белки системы репарации ДЦР путем гомологичной рекомбинации, а также белки апоптозного каскада [86, 89, 90, 91, 92].

Таким образом, нарушение или снижение экспрессии *CHEK2* может приводить к нарушению функции контрольных точек клеточного цикла, дефектам гомологичной рекомбинации, а также расстройствам апоптозного ответа на генотоксический стресс.

1.4 Роль популяционных особенностей полиморфизмов генов *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PALB2* при проведении молекулярно-генетических исследований

До сих пор не существует унифицированного «золотого стандарта» ранней неинвазивной диагностики ЗНО яичников, который позволил бы достоверно идентифицировать наличие опухолевого процесса на ранних этапах злокачественной трансформации. Это объясняется целым комплексом факторов, основными из которых являются клинично-морфологическая и генетическая гетерогенность, длительное бессимптомное течение, а также биологические свойства опухоли (быстрый, агрессивный рост и метастазирование).

Онкогинекологическое общество и Американская коллегия акушеров-гинекологов утвердили актуальные стандартные методы диагностики РЯ, включающие сбор анамнеза, осмотр с оценкой объективного статуса и симптомов заболевания, применение методов визуализации (трансвагинальное ультразвуковое исследование, УЗ-доплерография, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография и позитронно-эмиссионная томография). Большую значимость имеет проведение МГИ с последующим консультированием [93, 94, 95, 96].

Однако на сегодняшний день единственным общепризнанным протоколом для скрининга РЯ является определение содержания онкомаркера СА-125 в организме и проведение трансвагинального УЗ-мониторинга при достоверно установленном повышении его уровня. СА-125 представляет собой высокомолекулярный гликопротеин, который синтезируется и секретируется клетками железистого эпителия яичников, кишечника и некоторых других клеток. При использовании для диагностики РЯ сывороточного СА-125 с пороговым значением 35 Ед/мл чувствительность и специфичность составляют 65 % и 97 %, а положительное прогностическое значение – до 10 % [96, 97, 98, 99, 100, 101].

Тем не менее сейчас использование СА-125 в качестве онкомаркера связано с определенными проблемами и ограничениями. Повышение уровня СА-125 не является специфичным только для РЯ и характерно для ряда других патологий и

состояний. Помимо этого, концентрация СА-125 демонстрирует статистически значимую зависимость от ряда демографических и клинических факторов, а также перенесенные гинекологические оперативные вмешательства, в частности гистерэктомию [102, 103, 104, 105].

Помимо СА-125, была определена группа других биохимических онкомаркеров, использование которых возможно для диагностики РЯ, включая НЕ4 лизофосфотидиловую кислоту, остеопоэтин и др. Использование диагностической панели, то есть определение уровня нескольких маркеров, – еще один путь увеличения чувствительности и специфичности скрининга. Комбинация из четырех и более белков увеличивает специфичность и чувствительность диагностики по сравнению с определением исключительно уровня СА-125 (для ранних стадий при неизменной специфичности, чувствительность составила до 70 %) [26, 106, 107, 108, 109, 110, 111].

Таким образом, наиболее распространенные на сегодняшний день методы скрининга РЯ, включая определение уровня биомаркера СА-125 и различные методы визуализации, информативны и полезны в качестве контроля динамики заболевания. Эти методы не позволяют достоверно определить риск развития заболевания. Кроме того, применение их в качестве методов ранней диагностики также малоэффективно. Эта ситуация приводит к необходимости поиска и активного внедрения в клиническую практику других подходов к диагностике и выявлению риска развития РЯ, которые позволят, в том числе, проведение комплекса эффективных превентивных мероприятий у пациенток из группы высокого риска. Решением данной проблемы может стать увеличение охвата пациенток МГИ.

В настоящее время молекулярно-генетическое профилирование опухолевой ткани представляет собой обязательный компонент персонализированного подхода в онкологии, определяющий выбор терапевтической стратегии и оценку прогноза заболевания. Для многих онкопатологий назначение высокоэффективной таргетной терапии основывается на результатах МГИ, а перечень ответственных генов и мутаций отражены в клинических рекомендациях

по диагностике и лечению заболеваний [112].

Проведение МГИ актуально для двух категорий людей. К первой относятся непосредственно пациенты с установленным диагнозом ЗНО. Проведение МГИ у данной группы больных позволит верифицировать наследственный характер заболевания и установить точный генетический диагноз, определить молекулярно-генетические механизмы этиопатогенеза заболевания, в результате чего может быть подобран наиболее эффективный индивидуализированный подход к лечению заболевания (в том числе, выбор схемы химиотерапии, к которой данный вид опухоли наиболее чувствителен). Вторую группу составляют здоровые родственники с высокой вероятностью наличия генетической предрасположенности к развитию данного заболевания. При выявлении определенного генетического или эпигенетического повреждения, целесообразно проведение комплекса превентивных мероприятий, включая активное динамическое наблюдение и предупредительные меры (оперативное вмешательство) [7, 113, 114].

Рекомендации по использованию превентивного протокола на сегодняшний день сформулированы относительно носительниц мутаций исключительно в генах *BRCA1* и *BRCA2*. В то же время доказательно-обоснованные рекомендации по профилактике РЯ в случае доказанного носительства мутаций не содержат четко структурированных алгоритмов. Безусловно, основное внимание рекомендуют уделять более интенсивному и частому скринингу таких женщин: рекомендуется проведение трансвагинального УЗИ и определение уровней онкомаркеров в учащенном режиме – с 35 лет каждые 6 месяцев [16, 26, 115, 116].

Также рекомендуется устранить модифицируемые ненаследственные факторы риска РЯ, которые могут способствовать пенетрации мутаций. Тем не менее, достижение максимально возможного уменьшения риска запуска канцерогенеза возможно только в случае проведения хирургической профилактики – билатеральной овариэктомии. При этом степень эффективности этого превентивного метода в случае обнаружения мутаций в других генах-кандидатах на сегодняшний день не изучена [33, 34, 117, 118].

Генотипическое подтверждение наличия патологических вариантов генов *BRCA1* и *BRCA2* у пациенток с уже установленным диагнозом важно для понимания фенотипических проявлений заболевания, оценки прогноза и выбора наиболее эффективного терапевтического метода. Так, *BRCA*-ассоциированный РЯ характеризуются быстрым ростом, преобладанием низкодифференцированных опухолей низкой степени злокачественности [42].

На молекулярном уровне клетки с аномальными вариантами белков *BRCA1*, *BRCA2* утрачивают способность проведения эффективной гомологичной рекомбинации, соответственно – повышается чувствительность к любым повреждениям ДНК, каждое из которых может привести к гибели клеток. На этом свойстве основаны рекомендации по назначению алкилирующих ДНК-повреждающих агентов (препараты платины) для достижения максимальной эффективности терапии таких опухолей [119, 120, 121].

При *BRCA*-ассоциированном РЯ обоснованным методом таргетной терапии является назначение препаратов из группы ингибиторов *PARP*. Белки семейства *PARP* (Poly ADP Ribose Polymerase) играют ключевую роль в восстановлении одноцепочечных разрывов ДНК. В опухолевых клетках с дефицитом *BRCA*, где нарушен механизм гомологичной рекомбинации, компенсаторно активируются альтернативные пути репарации, включая *PARP*-зависимый. Однако данный процесс приводит к нестабильному и мутагенному восстановлению ДНК, поскольку поврежденные цепи репарируются независимо друг от друга. Блокирование *PARP* в таких условиях вызывает накопление нерепарируемых повреждений, что индуцирует гибель мутировавших клеток и подавляет их дальнейшее деление [122, 123, 124, 125, 126].

Несмотря на то, что перечень генов, патология которых чаще всего приводит к развитию РЯ, известен, распространенность и спектр мутаций в этих генах переменны у жителей разных стран и представителей различных этносов даже внутри одного государства.

В популяционно-генетических исследованиях широко используется концепция «эффекта основателя» (founder effect), описывающая феномен

накопления специфических генетических вариантов в изолированных этнических группах или географических регионах. Данное явление находит прямое отражение в особенностях мутационного спектра генов наследственной предрасположенности к РЯ и РМЖ, что отчётливо прослеживается при изучении структуры онкологической заболеваемости в различных популяциях [80].

Фаундер-эффект, в сущности, является следствием утраты генетического разнообразия в популяции. Прежде всего, это связано с длительной исторической изоляцией определенного этноса по ряду причин, включая социально-культурные, религиозные или географические факторы, в результате чего возрастает частота близкородственных браков. Это приводит к накоплению и увеличению частоты появления определенного спектра мутаций внутри этноса [80].

Существование эффекта основателя является важнейшим аргументом в пользу необходимости формирования популяционно-специфических диагностических панелей молекулярно-генетических маркеров ЗНО, в том числе РЯ. Популяционно-ориентированный подход позволит существенно упростить раннюю диагностику РЯ и повысить эффективность профилактики и уменьшения риска развития ЗНО путем динамического наблюдения, химиопрофилактики или проведения оперативного вмешательства у пациенток в группе риска.

Фаундер-мутации характерны для генов *BRCA1* и *BRCA2*. Наиболее изученной в контексте founder-эффекта этнической группой с четко установленным спектром патогенных вариантов являются ашкеназские евреи. Для данной популяции характерно превалирование двух основных мутаций в гене *BRCA1*: 185delAG и 5382insC; и одна мутация в гене *BRCA2*: 6174delT. Другим пример «эффекта основателя» являются жители Исландии, для которых характерной является мутация c.999del5 в гене *BRCA2*. В странах Восточной Европы наиболее часто встречаются мутации в гене *BRCA1* c.5382insC, c.300T>G (C61G), c.4153delA [16].

В период с 2018 по 2021 год было проведено исследование особенностей молекулярно-генетического профиля пациентов с различными онкологическими диагнозами, основанном на детекции мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*.

В исследовании было включено 481 пациент с впервые установленным диагнозом РЯ на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва. Результаты исследования, опубликованные в 2022 году, показали, что частота мутаций генов *BRCA1/2* при тестировании с использованием стандартной панели мутаций составила до 17 %. При этом наибольшей встречаемостью характеризовалась мутация *BRCA1* с.5382insC (10,4 %) [8].

Совокупность мутаций, типичных для жителей Российской Федерации, также достаточно стабильна среди славянского населения в различных регионах страны. В качестве фаундер-мутации можно рассматривать *BRCA1* мутацию 5382insC, на долю которой приходится до 80 % случаев. Кроме того, к другим распространенным мутациям относится *BRCA1*с.185delAG [15, 16]. Что касается гена *CHEK2*, наиболее распространенной мутацией считается 1100delC, обнаруженная группой исследователей из Нидерландов и Германии в 2002 году. В европейской популяции частота *CHEK2*-мутации составляет до 1,5 %. Среди населения РФ встречаемость 1100delC варьирует в диапазоне от 1 % до 4 %, а более распространенным считается среднепенетрантный полиморфизм *CHEK2*с.470T>C, вклад которого в патогенез РЯ и РМЖ до сегодняшнего дня остается дискуссионным [126, 127, 128].

Множественные исследования, проведенные в разных странах и этнических группах, подтвердили вклад *PALB2* в заболеваемость РМЖ, однако случаи раковых заболеваний, связанных с мутацией гена *PALB2* относительно редки, поэтому их систематический анализ затруднен. Считается, что *PALB2* можно классифицировать как ген умеренной пенетрантности для РЯ [129].

Анализ распространенности патогенных вариантов демонстрирует значительную вариабельность среди различных этнических групп. Проведенные исследования среди пациенток с наследственными формами РМЖ в славянской популяции Крыма и Севастополя выявили следующие частоты мутаций: *BRCA1* с.5382insC (10,1 %), *BRCA1* с.185delAG (0,5 %) и *BRCA2* 6174delT (0,5 %).

Примечательно, что в крымскотатарской популяции, несмотря на наличие

отягощенного семейного анамнеза по РМЖ, данные наследственные мутации идентифицированы не были [18].

Безусловно, такие особенности формирования генетического полиморфизма связаны с уникальностью изучаемой популяционной группы Крымского полуострова, сформировавшейся в связи с целым комплексом исторических событий, географическими факторами и особенностями миграционных процессов. Очевидно, что определенная часть больных семейной формой РЯ и/или РМЖ имеет мутационный профиль, отличный от общепопуляционного российского. Этот популяционно-специфичный мутационный профиль может характеризоваться наличием как ранее не идентифицированных мутаций генов высокой степени пенетрантности, так и совместным действием мутаций средней и низкой степени пенетрантности.

Таким образом, трудно переоценить значимость корректного и своевременного проведения МГИ при оказании помощи пациенткам с диагнозом РЯ. Генетическая нестабильность клетки лежит в основе патогенеза как наследственных, так и спорадических форма заболевания, и понимание механизмов развития молекулярных нарушений при канцерогенезе необходимо для определения прогноза и выбора наиболее корректного терапевтического подхода. Несмотря на то, что роль инактивации генов *BRCA1*, *BRCA2* в патогенезе РЯ относительно изучена на достаточном уровне, анализ спектра и частоты мутаций в этих генах, а также в других генах, потенциально ответственных за патогенез РЯ, в Крымском регионе прежде не проводился. Понимание региональных особенностей молекулярно-генетического этиопатогенеза РЯ необходимо не только в контексте улучшения качества оказания онкологической помощи пациентам в Крыму, но и для расширения патофизиологических, клинико-морфологических и эпидемиологических знаний для данной онкопатологии в целом.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн исследования

Исследование проводилось на кафедре общей и клинической патофизиологии Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» в период с 2021 по 2025 год. Клинической базой для исследования послужили: ГБУЗ РК «Крымский республиканский клинический онкологический диспансер имени В. М. Ефетова», Центр клинической онкологии и гематологии, г. Симферополь.

Исследование было одобрено на заседании комитета по этике ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» (протокол №6 от 7 июня 2022 г.; протокол №7 от 16 октября 2025 г.).

На I этапе исследования был произведен ретроспективный анализ первичной медицинской документации участниц исследования и формирование групп. Все участницы исследования были разделены на две группы – основную и контрольную в соответствии с критериями включения и исключения.

Группу исследования составили 120 пациенток с морфологически подтвержденным эпителиальным РЯ (средний возраст 61.3 ± 9.2 лет), 19 (15,8 %) из которых крымские татарки, а 101 (84,2 %) – славянки. Все пациентки проходили обследование в полном объеме в соответствии со стандартами оказания помощи онкологическим больным, включая компьютерную томографию и/или магнитно-резонансную томографию, позитронно-эмиссионную томографию, прижизненной гистологическое исследование опухолевого материала, в отдельных случаях – иммуногистохимическое (ИГХ) исследование опухолевого материала и определение уровней онкомаркеров СА-125 и He4 до начала лечения и в динамике.

Контрольную группу составили 100 здоровых доноров по возрасту, менструальной функции и этнической принадлежности сопоставимые с женщинами из группы исследования (средний возраст $58,3 \pm 8,2$ года), из которых 25 (25 %) – крымские татарки, 75 (75 %) – славянки ($p = 0,09$).

Критериями включения в группу исследования были выбраны следующие

характеристики (два или более):

- 1) установление диагноза РЯ в молодом возрасте (<50 лет);
- 2) семейный анамнеза по ЗНО: наличие родственников I-II степени родства с подтвержденным диагнозом – РЯ, РМЖ, рак предстательной и поджелудочной железы;
- 3) поражение правого и левого яичников;
- 4) наличие сочетанных опухолевых синдромов и/или первично-множественных синхронных и метакронных поражений;
- 5) постоянное проживание в Крыму пациентки, а также родственников не менее, чем в двух поколениях, в Крыму;
- 6) самоопределение к определенной этнической группе (славяне, крымские татары);
- 7) добровольное согласие на участие в исследовании, подтвержденное письменно.

Пациентки исключались из исследования в случае отказа от участия на любом этапе, при отсутствии гистологической верификации рака, временное пребывание в Республике Крым, принадлежность к этнической группе, не относящейся к исследуемым.

В контрольную группу включались женщины в случае добровольного согласия на участие в исследовании при отсутствии онкологических заболеваний у самой женщины, а также у ближайших родственников I-III степени родства.

Пациенткам, а также здоровым донорам были четко разъяснены цель и задачи исследования, предоставлена информация о планируемых методиках молекулярно-генетической диагностики. Для участия в исследовании женщины как из основной, так и из контрольной группы подписывали информированное добровольное согласие, форма которого была утверждена на заседании этического комитета, а также проходили обязательное анкетирование, в ходе которого необходимо было ответить на вопросы о наличии онкологического заболевания у опрашиваемого, ближайших родственников, а также других факторов риска развития РЯ (Приложение).

На втором этапе исследования осуществлялся сбор биологического материала для последующего молекулярно-генетического анализа. У участниц исследования производился забор периферической венозной крови в объеме 2-3 мл. Для получения образцов применялись стандартные вакутейнеры с 6 % раствором этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) в качестве антикоагулянта. Хранение пробирок осуществлялось не более 24 часов при температурном режиме +2 ... +8°C. Далее пробирки транспортировались в Центральную научно-исследовательскую лабораторию Инжинирингового Центра «Генетические и клеточные биотехнологии» Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С. И. Георгиевского, где проводилось молекулярно-генетическое исследование методом ПЦР в режиме реального времени. Длительное хранение образцов осуществлялось при температуре -70°C.

На III этапе проводился анализ результатов, полученных при генотипировании образцов крови и сопоставление данных с клинико-морфологическими характеристиками РЯ, сравнение характеристик исследуемых групп и статистическая обработка данных.

2.2 Методика проведения молекулярно-генетического исследования

Практическая часть исследования проводилась на базе кафедры общей и клинической патофизиологии и Центральной научно-исследовательской лаборатории Инжинирингового Центра «Генетические и клеточные биотехнологии» Ордена Трудового Красного Знамени медицинского института им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского».

2.2.1 Взятие материала для исследования

Забор образцов цельной крови производился натошак с использованием вакуумных системы в пробирки, содержащие 6 %-ный раствор ЭДТА. Как правило, забор крови женщин основной группы производился при госпитализации с целью проведения хирургического лечения или очередного курса химиотерапии; здоровые доноры для забора приглашались отдельно в удобное для них время. Хранение пробирок осуществляется в лабораторных условиях при температуре до

-70°C.

2.2.2 Выделение ДНК из цельной крови

Первоначально производилась изоляция ДНК исследуемых женщин из образцов крови. Для выделения ДНК использовался набор для экстракции «Extract DNA Blood» («Евроген», Россия), согласно инструкции, предоставленной производителем, с использованием спин-колонок – модифицированных пробирок, содержащих силикатные фильтры, необходимых для связывания нуклеиновых кислот.

Сначала образцы крови интенсивно перемешивали методом переворачивания пробирок, которые использовались для забора и хранения материала, затем отбирали по 100 мкл крови и помещали их в предварительно подготовленные чистые и промаркированные пробирки объемом 1,5 мл. К отобранному объему крови добавляли по 100 мкл заранее приготовленной смеси для лизиса, содержащей 100 мкл «Лизирующего раствора» и 10 мкл протеиназы К из состава набора. Содержимое пробирок повторно интенсивно перемешивали методом переворачивания пробирок и с использованием вортекса в течение 5 секунд, затем производили сброс капель и инкубацию в течение 10 минут при температуре +56°C, периодически перемешивая (до 2-3 раз).

Далее по истечению установленного времени производилось добавление к смеси по 100 мкл 96 %-ного раствора этилового спирта, с последующим интенсивным перемешиванием с использованием вортекса. По завершению этого этапа в пробирки вносили 400 мкл «связывающего раствора М»; содержимое пробирок тщательно перемешивали для достижения гомогенизации.

Весь объем содержимого, который, как правило составлял на данном этапе приблизительно 700 мкл, переносили в предварительно промаркированные спин-колоники, установленные в собирательных пробирках. Далее производилось центрифугирование пробирок в течение 30 секунд при относительном ускорении (RCF) – 11337 g с использованием настольной центрифуге Mini-spin.

После окончания процесса центрифугирования спин-колонку аккуратно переносили в новую стерильную собирательную пробирку. К образцу добавляли

700 мкл промывочного буфера с последующим повторным центрифугированием в течение 30 секунд при RCF = 11337 g. Процедуру промывки повторяли дважды для обеспечения наиболее эффективного удаления примесей.

После центрифугирования предварительно маркировали чистую пробирку объемом 1,5 мл, в которую производили перенос спин-колонки. В последующем производили открытие крышки, используемой спин-колонки с целью тщательного просушивания содержимого в течение 5 минут для испарения следового количества спирта.

Спустя 5-минутный интервал на мембранную поверхность спин-колонки вносили 50 мкл элюиционного буфера с последующей инкубацией в условиях комнатной температуры в течение 1 минуты и центрифугированием при RCF = 11337 g на протяжении 30 секунд. Указанную процедуру элюции дублировали дважды, что позволяло получить суммарный объем очищенной ДНК, соответствующий 100 мкл.

Процесс выделения ДНК завершался измерением концентрации и чистоты выделенных образцов при помощи спектрофотометра Implen P360. Данный процесс необходим для определения соответствия полученных образцов ДНК критериям отбора для дальнейшего проведения ПЦР.

Критерии отбора: образцы с концентрацией не менее 5 нг/мкл и чистотой не менее 1,6 по A260/280. Образцы, не соответствующие данным критериям в случае недостаточной концентрации ДНК, проходят процесс дополнительного выделения. В ситуациях, когда концентрация образцов превышала 50 нг/мкл производилось их разбавление до 20-50 нг/мкл.

2.2.3 Методика проведения генотипирования

Непосредственно детекцию искомым мутаций осуществляли качественным методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени с оценкой кривых плавления. При использовании данного метода для генотипирования применяются стандартные наборы реагентов, содержащие в том числе праймеры для выявления искомым мутаций, количество которых определяется выбранным набором. Состав наборов варьируется и зависит от производителя, а количество целевых мутаций

ограничено. Примеры коммерческих наборов, используемых для МГИ в РФ представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Перечень и состав коммерческих наборов для выявления мутаций в генах наследственной предрасположенности к РМЖ и РЯ методом ПЦР

Ген и мутация		Набор							
		Онко-генетика (ДНК-технология)	ПФ-БИОЧИП (LabMed-Service)	Реал-бест генетика (Вектор-бест)	BRCA-скрининг (ИнтерЛаб-Сервис)	ГенТест (НОМОТЕК)	Пронго (Биохиммак)	HRR-скрининг (Тестген)	Пироскрин BRCA- скрин (Амплиценс)
BRCA1	5382insC (5266dupC)	+	+	+	+	+	+	+	+
	185delAG (68_69del)	+	+	+	+	+	+	+	+
	300 T>G (181T>G)	+	+	+	+	+	-	+	+
	4153delA	+	+	+	+	+	-	+	+
	2080delA	+	-	+	+	+	-	+	-
	3819delGTAAA	+	-	+	-	+	-	+	-
	3875delGTGT	+	-	+	-	+	-	-	-
	4158A>G	-	+	-	-	-	-	-	-
	5251C>T	-	-	-	-	-	-	+	-
	5161C>T	-	-	-	-	-	-	+	-
4675G>A	-	-	-	-	-	-	+	-	
BRCA2	6174delT	+	+	+	+	+	+	-	+
	3749dupA	-	-	-	-	-	-	+	-
	961_962insAA	-	-	-	-	-	-	+	-
CHEK2	470T>C	-	-	-	-	-	-	+	-
	1100delC	-	+	+	-	-	-	+	-
	444+1G>A	-	-	+	-	-	-	+	-
	893_897del	-	-	-	-	-	-	+	-
NBS1 657del5	-	-	+	-	-	-	-	-	
PALB2 1592delT	-	-	-	-	-	-	+	-	

Для достижения поставленных целей и задач был использован набор

реагентов «HRR-скрининг» («Тестген», Россия). Данная тест-система обладает наиболее расширенным профилем генотипирования среди доступных систем, включая праймеры для идентификации 16 патогенных вариантов в генах, ассоциированных с РЯ и РМЖ.

Для изготовления смеси для генотипирования производили подготовку необходимого количества пробирок для ПЦР объемом 100-200 мкл, основываясь на расчётах для каждого используемого мультиплекса: количество исследуемых образцов + положительный контрольный образец – нормальная гомозигота (ПКО-N), + положительный контрольный образец – мутантная гомозигота (ПКО-М) + отрицательный контрольный образец (ОКО) x 8, где 8 – количество праймер миксов, каждый из которых определяет 2 мутации.

Таким образом, для исследования образца ДНК одной женщины необходимы 32 пробирки: по 8 на образец, ПКО, ОКО.

Для подготовки ПЦР-смеси производили смешивание 10 мкл ПЦР-буфера и 4 мкл соответствующего праймер микса. Затем в каждую готовую реакционную смесь производили внесение 6 мкл образца (исследуемый образец ДНК, ПКО-N, ПКО-М, ОКО). Схема расположения образцов представлена в таблице 5.

Таблица 5 – Схема расположения образцов при постановке ПЦР

Мультиплекс	ОКО	ПКО-N	ПКО-М	Образец 1	Образец n
5266/181	○	○	○	○	○
5251/5161	○	○	○	○	○
4035/1961	○	○	○	○	○
3749/4675	○	○	○	○	○
470/961	○	○	○	○	○
68/3700	○	○	○	○	○
1100/444	○	○	○	○	○
1592/893	○	○	○	○	○

Готовые пробирки размещались в амплификатор с последующим запуском программы амплификации. Режим программы указан в таблице 6.

По завершению циклов амплификации результаты фиксировали с помощью

программного обеспечения амплификатора. Интерпретация полученных результатов выполнялась по изучению значений температуры плавления по каналам FAM, HEX.

Таблица 6 – Программа амплификации образцов

Стадия	Температура, С	Время, мин:сек	Каналы детекции	Всего циклов
1	95	2:00	-	1
2	94	00:15	-	5
	67	00:30	-	
3	94	00:10	-	45
	67	00:30	-	
4	95	00:05	-	1
5	25	00:30	-	1
6	25	00:15	FAM, HEX	Каждый цикл подъем температуры до 0,5°C, вплоть до 100°C

При оценке отрицательного контроля не должно определяться ни одного пика плавления. При оценке положительных контролей должно фиксироваться наличие пика плавления и зафиксироваться температура плавления.

Результат считался отрицательным при отсутствии мутации, что определялось как наличие одного пика плавления, отличающегося по температуре не более чем на 2°C от отрицательного контроля. Сомнительным результат признавался, когда температура плавления отличалась от ПКО-N и ПКО-M более, чем на 2°C. В таком случае реакция запускалась повторно для исключения ложноположительных и/или ложноотрицательных результатов.

Наличие искомой мутации в образце фиксировалось при наличии одного пика плавления, отличающегося по температуре не более, чем на 2°C от пика плавления ПКО-M, а также при наличии «трапецевидного пика плавления» без определения температуры плавления. Примеры наличия и отсутствия искомых мутаций по оценке кривых плавления представлены в рисунке 6 (а, б).

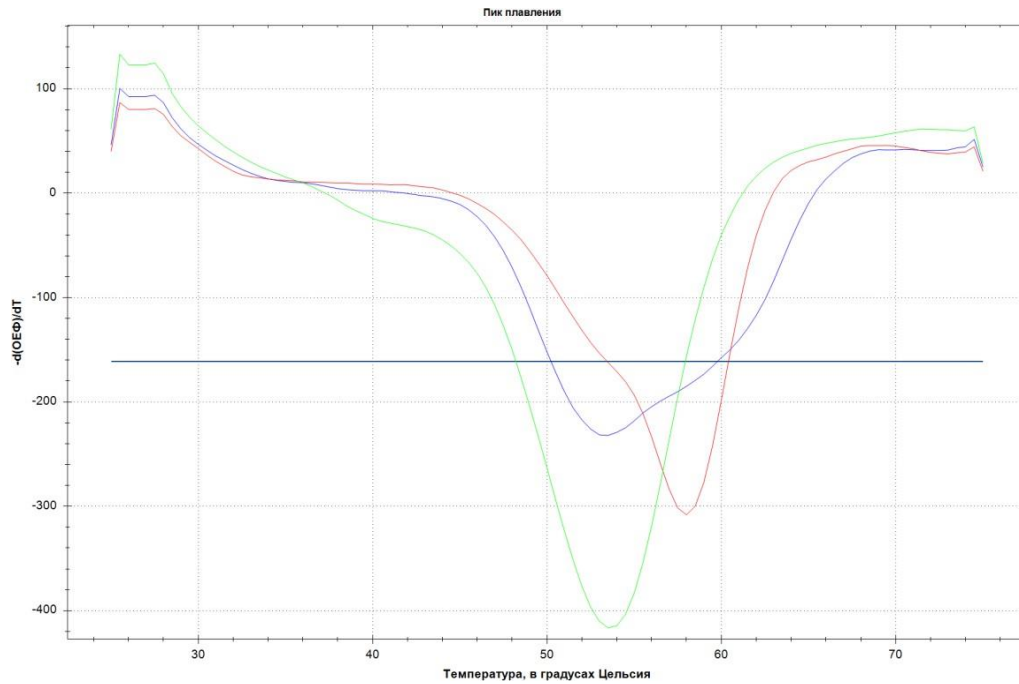
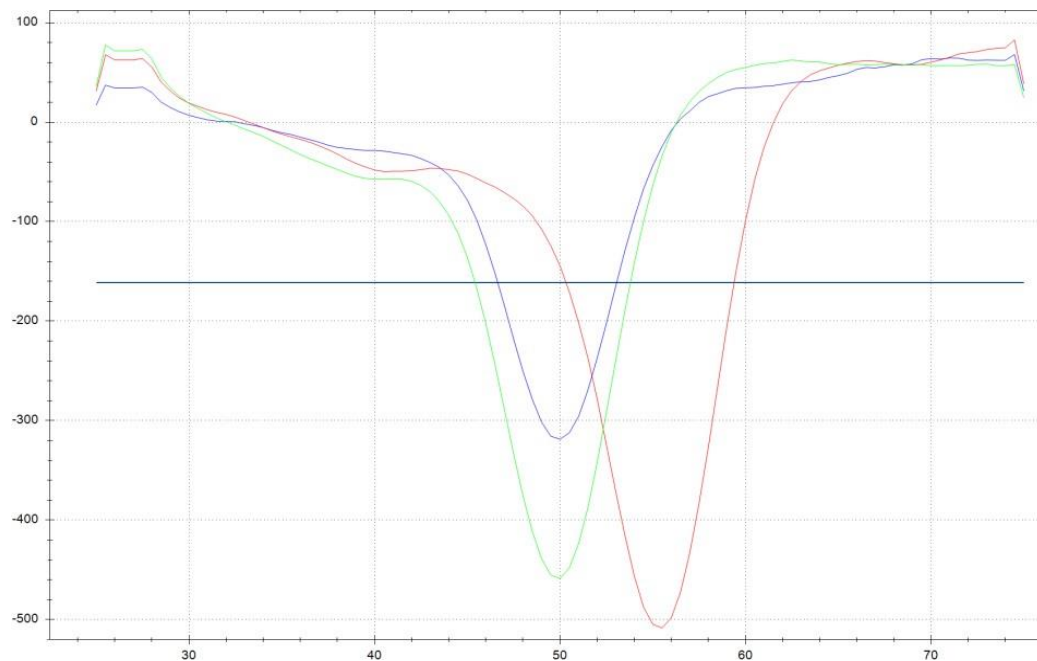


Рисунок 6 а) Пример наличия мутации, «трапецевидный график», где зеленая линия ПКО-N, красная ПКО-M, синяя – исследуемый образец



б) Пример отсутствия мутации, где зеленая линия ПКО-N, красная ПКО-M, синяя – исследуемый образец

2.3 Анализ данных и статистическая обработка данных

Статистическая обработка и интерпретация полученных данных выполнялись с использованием пакета прикладных программ Microsoft Office

Excel 2010 (Microsoft, США), в котором был создан первичный массив данных с регистрацией ключевых клинико-морфологических параметров основной и контрольной групп. Дальнейший статистический анализ осуществлялся в среде IBM SPSS Statistics (версия 23.0, IBM Corp, США).

Для решения поставленных исследовательских задач были сконструированы вариационные ряды. Ключевым методом анализа стало сравнительное изучение различных когорт участниц, включая сопоставление клинико-морфологических параметров РЯ у носительниц патогенных вариантов и пациенток без идентифицированных мутаций, сравнение основной группы с контрольной, а также анализ межэтнических различий. Дополнительно выполнялся расчет частот встречаемости изучаемых генетических вариантов в сравниваемых группах.

Количественные данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, а m – стандартная ошибка среднего значения. Также использовались интервальные выражения количественных данных в виде межквартильного интервала и медианы.

Оценка нормальности распределения изучаемых количественных признаков осуществлялась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Нормальным распределение признака считалось при показателе W-критерия $p \geq 0,1$. В случае нормального распределения данных использовали параметрические методы сравнения количественных данных (критерий Стьюдента). При негативном результате при оценке нормальности распределения в изучаемых выборках, а также при общем количестве наблюдений в сравниваемых выборках меньше 50, применялись непараметрические критерии (критерий Манна-Уитни).

При анализе различий качественных признаков в независимых выборках (пациенты с детектированными мутациями/при отсутствии мутаций, а также контрольная и основная группы) использовали метод составления таблиц сопряженности с применением критерия χ^2 Пирсона или точного критерия Фишера, когда математическое ожидание значений в любой из ячеек таблицы с заданными границами оказывалось ниже 5. Для оценки связи между наличием события (фактором риска) и исходом использовали показатель отношения шансов.

Все различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [130].

ГЛАВА 3. АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОК С РАКОМ ЯИЧНИКОВ И ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН

3.1 Генотипическая структура и патофизиологическое значение выявленных мутаций у пациенток с раком яичника

Несмотря на неоспоримую и давно установленную роль молекулярно-генетических исследований в диагностике злокачественных новообразований, их интеграция в клиническую практику остается недостаточной. Это подтверждается низкими мировыми показателями обращаемости к врачам-генетикам, в то время как в Российской Федерации систематизированная статистика по данному вопросу отсутствует.

Анализ медицинских карт пациенток, вошедших в группу исследования, показал, что лишь 40,8 % (48/120) прошли молекулярно-генетическое исследование в рамках обследования при установлении диагноза рака яичников или в процессе лечения. Во всех случаях тестирование проводилось методом аллель-специфичной ПЦР с использованием праймеров, соответствующих утвержденной молекулярно-генетической панели: *BRCA1* (5382InsC(5266dupC), 4153DelA(4035delA), 185delAG (68_69del), 2080delA(1961del), 3819delGTAAA (3700_3104del), 3875delGTCT (3755_3758del), 300 T>G (181 T>G, Cys61Gly) в гене *BRCA2* (6174DelT).

В большинстве случаев (64,5 %) в качестве материала для исследования был использован опухолевый материал, полученный по результатам хирургического лечения или при верификации опухоли, реже использовались образцы крови или комбинация разных видов материалов (рисунок 7).

Анализ полученных данных позволил идентифицировать шесть патогенных вариантов у шести пациенток (12,5 % от общей выборки). Генетический профиль мутаций распределился следующим образом: два случая (4,2 %) были ассоциированы с геном *BRCA2* (вариант с.6174delT) и четыре случая (8,3 %) – с геном *BRCA1* (вариант с.5266dupC). Все указанные генетические повреждения

были обнаружены исключительно при генотипировании опухолевой ткани, в то время как исследование образцов периферической крови не выявило наличия данных мутаций. Полученные результаты свидетельствуют о доминировании спорадических форм РЯ в исследуемой когорте пациенток.

Материал для МГИ

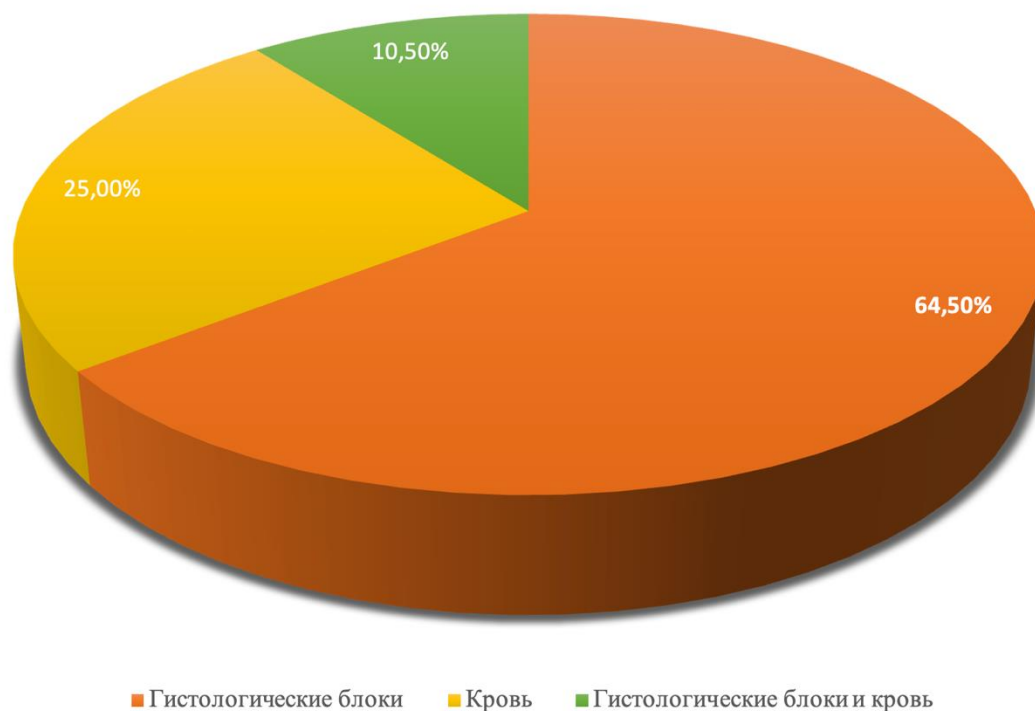


Рисунок 7 – Материал, использованный для проведения МГИ в рамках обследования пациенток до проводимого исследования

Таким образом, можно сделать вывод о низком охвате пациенток с диагнозом РЯ молекулярно-генетической диагностикой. Менее половины пациенток прошли МГИ до участия в исследовании, что свидетельствует о недостаточной интеграции данного вида диагностики в клиническую практику или о наличии сложностей при его проведении. К вероятным сложностям можно отнести отсутствие четкой клинической маршрутизации, ограничения в доступе к лабораторным услугам и низкий уровень комплаенса.

У 12,5 % из исследованных пациенток результат был положительным, что подтверждает диагностическую значимость МГИ и большую вероятность общей

недообследованности крымских пациенток.

В ходе проведения молекулярно-генетического исследования было установлено носительство 22 мутаций в группе исследования (22/120; 18,3%). Большая часть мутаций (17/22; 77,3%) были идентифицированы при генотипировании образцов крови пациенток, свидетельствуя о наследственной природе РЯ; шесть патологических вариантов были выявлены при генотипировании опухолевого материала в рамках оказания помощи после установки диагноза РЯ, однако в рамках данного исследования одна из пациенток оказалась также носительницей герминального варианта мутации. Таким образом, доля соматических мутаций составила 22,7 % (5/22) (рисунок 8).

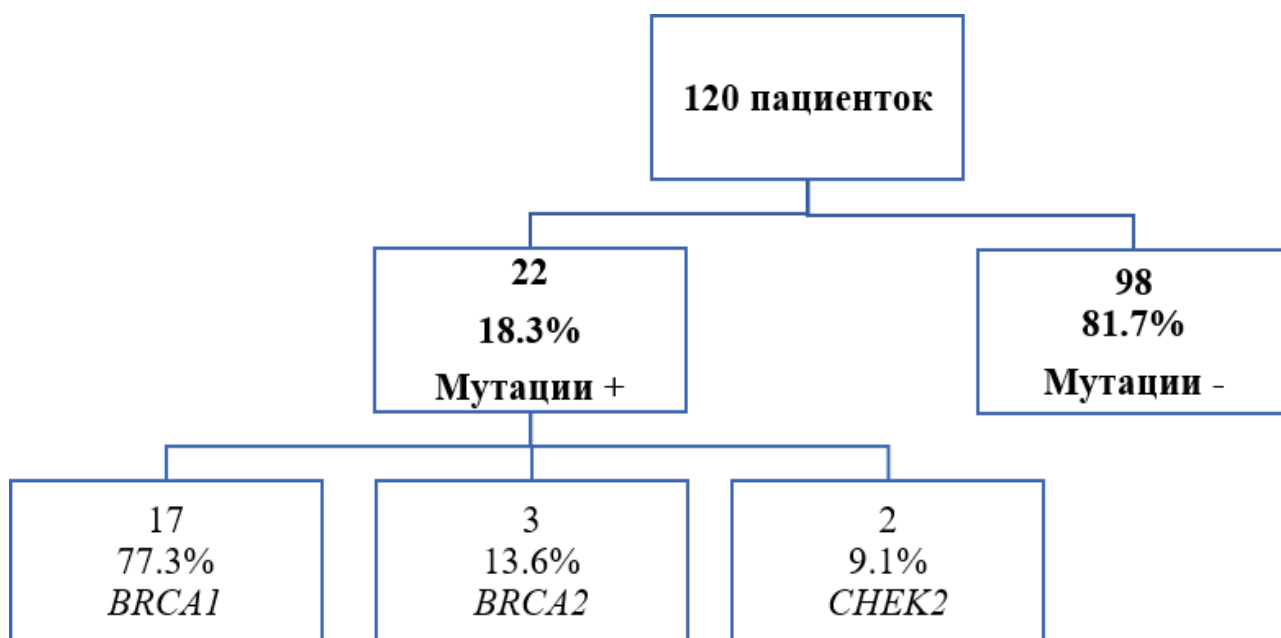


Рисунок 8 – Результат генотипирования основной группы

Превалирующими являлись мутации в гене *BRCA1* (77,3 %), при этом большая часть детектированных мутаций (14/17; 82,4 %) являлись герминальными и были обнаружены при проведении генотипирования на образцах крови. В трех случаях (3/17; 17,6 %) мутации были обнаружены исключительно при исследовании опухолевого материала без дальнейшего подтверждения носительства при тестировании крови, в одном случае мутация была первоначально выявлена при тестировании опухолевой ткани, а позднее

носительство было детектировано и при исследовании крови, что также свидетельствует в пользу наследственной природы заболевания.

На долю мутаций в гене *BRCA2* пришлось всего три мутации (3/22; 13,6 %), однако в отличие от мутаций *BRCA1*, большинство выявленных генетических вариантов (2/3; 66,7 %) являлись соматическими и были выявлены при проведении ПЦР на образцах опухолевого материала без дальнейшего подтверждения носительства в крови, что свидетельствует о спорадической природе заболевания. Тем не менее, в одном случае (1/3; 33,3 %) мутация выявлена при исследовании образцов крови.

В двух случаях (2/22; 9,1 %) было установлено носительство полиморфизма *CHEK2*c.470T>C при тестировании крови пациенток; при этом в одном случае носительство герминального полиморфизма *CHEK2*c.470T>C и мутации *BRCA2*c.6174delT было сочетано.

Анализ качественного спектра выявленных мутаций показал, что доминирующей мутацией в гене *BRCA1* (10/17; 58,8 %) являлся молекулярно-генетический вариант c.5266dupC, при этом все соматические варианты связаны исключительно с этой мутацией. Среди других идентифицированных генетических вариантов можно выделить мутации c.4035delA (4/17, 23,5 %), c.181T>G (2/17, 11,8 %), c.68_69del (1/17, 5,8 %), которые были выявлены при тестировании образцов крови.

В свою очередь в гене *BRCA2* было выявлено две соматические мутации c.6174delT (2/3, 66,7 %) и одна герминальная мутация c.3749dupA (1/3, 33,3 %). Мутация в гене *PALB2* в данной выборке пациентов не была генотипирована. Общая частота и спектр детектированных в группе исследования мутаций представлены на рисунке 9.

При анализе этнической принадлежности носительниц мутаций результаты продемонстрировали, что все мутации были выявлены у пациенток, самоидентифицирующихся как славянки (русские, украинки). Среди пациенток крымскотатарского этноса носительниц мутаций выявлено не было.

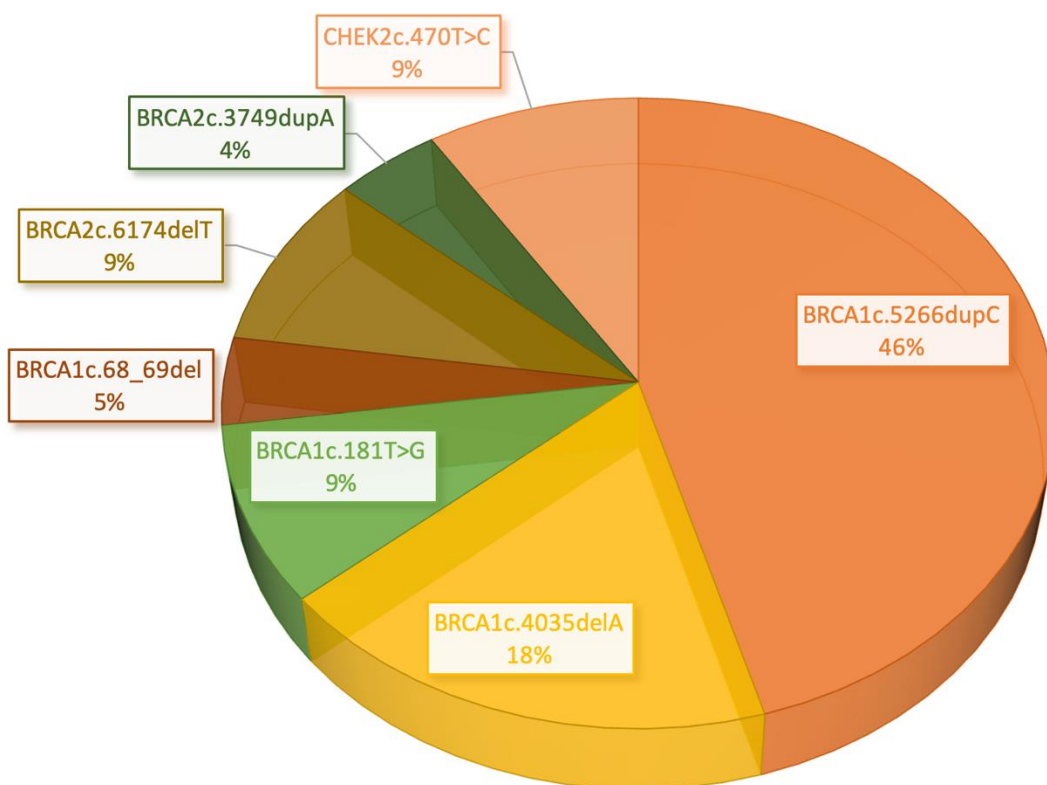


Рисунок 9 – Частота и спектр детектированных в группе исследования мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*.

Такие показатели можно объяснить, с одной стороны, превалированием славянок среди участниц исследования, а с другой стороны – особенностями крымскотатарского этногенеза. Крымские татары на протяжении долгого времени оставались относительно генетически закрытой группой, что позволяет предположить возможность наличия значительно отличающегося молекулярно-генетического профиля опухолей.

Таким образом, инактивация генов *BRCA*, в частности гена *BRCA1*, играет ведущую роль в этиопатогенезе как спорадических, так и наследственных форм РЯ. При этом наибольшей встречаемостью характеризуется генетический вариант *BRCA1c.5266dupC* (10/22; 45,6 %).

Также обращает на себя внимание превалирование герминальных мутаций в исследуемой выборке (17/22; 77,3 %), что свидетельствует о преобладании наследственных форм заболевания и подчеркивает важность проведения МГИ на любом из доступных для тестирования материалов. Все мутации выявлены среди

пациенток славянского происхождения, что подчеркивает этническую специфичность молекулярно-генетического профилирования и должно быть учтено при планировании скрининговых и диагностических программ для данной популяции.

3.2 Генотипическая характеристика и молекулярно-биологические особенности здоровых доноров контрольной группы

При проведении молекулярно-генетического тестирования образцов крови здоровых женщин, составивших контрольную группу, всего было выявлено пять мутаций у пяти женщин (5/100; 5 %).

В данной подгруппе доминирующим полиморфизмом являлся генетический вариант *CHEK2*c.470T>C, носительницы которого были выявлены в четырех из пяти случаев (4/100; 4 %). Важно отметить, что одна носительница данного полиморфизма принадлежит к крымскотатарской этнической группе; во всех остальных случаях полиморфизмы выявлены при тестировании образцов крови славянок.

В одном случае у здоровой женщины славянского этноса была детектирована мутация *BRCA1*c.5266dupC (1/100; 1 %), несмотря на отсутствие у нее семейного анамнеза по ЗНО, в частности – РЯ и РМЖ. В свою очередь, искомые мутации в генах *BRCA2*, *PALB2* среди доноров контрольной группы не были идентифицированы (рисунок 10).

3.3 Популяционный анализ и патофизиологическая интерпретация молекулярно-генетических различий

Проведенный анализ полученных результатов выявил характерные для славянского населения России особенности. Известно, что *BRCA*-ассоциированные формы заболевания занимают лидирующую позицию в структуре наследственных случаев РЯ в данной этнической группе. По результатам данного исследования обнаружена четкая тенденция к преобладанию именно этого генетического варианта.

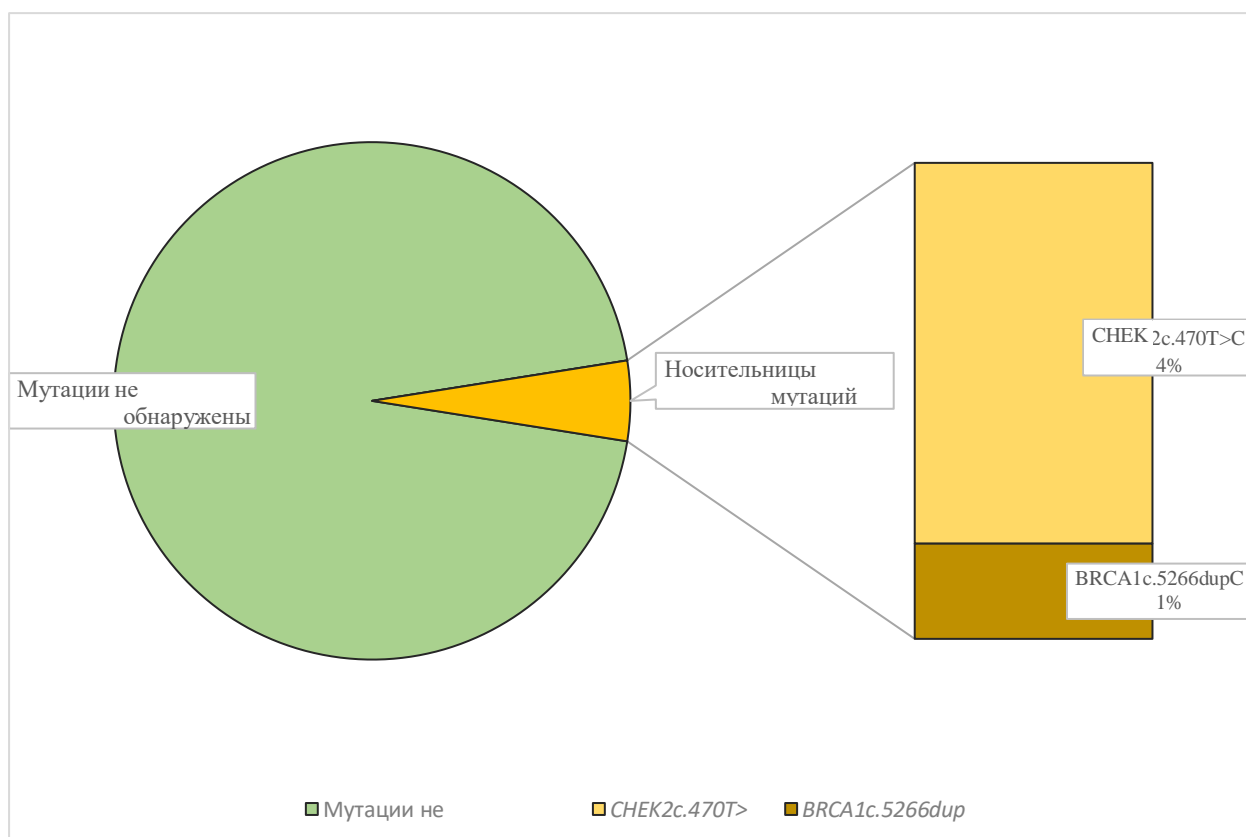


Рисунок 10 – Результаты генотипирования пациенток контрольной группы.

Однако детальный анализ частоты встречаемости мутаций в генах *BRCA1/2* в исследованной выборке показал некоторые отличия. Так, среди исследованных 120 пациенток основной группы патогенные варианты указанных генов были идентифицированы у 16,7 % женщин от общего числа случаев. Такие результаты существенно отличаются от данных, полученных в аналогичном масштабном межрегиональном исследовании OVATAR, результаты которого были опубликованы в 2023 году. В данном исследовании процент выявления мутаций в гене *BRCA1/2* составил 28,4 % в выборке из 486 человек, что более чем на 10 % больше выявляемости в данном исследовании. Безусловно, необходимо учитывать погрешность на различие методологии исследований (использование комбинации разных методов МГИ), однако такая разница показательна [131].

Герминальные мутации в основном были детектированы в гене *BRCA1*, «фаундер»-мутация с.5266dupC характеризовалась наибольшей встречаемостью (45,6 % среди всех мутаций и 8,3 % группы исследования). Такой результат

является характерным для славян и европейцев и подтверждает важность включения данной мутации в диагностическую панель.

Другие выявленные мутации в гене *BRCA1* с.181T>G, с.4035delA, с.68_69del также входят в панель, однако три оставшиеся мутации, включенные в стандартную панель (с.2080delA (1961del), с.3819delGTAAA(3700_3104del), с.3875delGTCT (3755_3758del), не были детектированы в исследованной выборке, что подчеркивает необходимость адаптации диагностических подходов к МГИ в соответствии с региональными особенностями.

Сравнительный анализ контрольной и основной группы в общем показал, что носительство герминальной мутации в гене *BRCA1* достоверно повышает риск развития РЯ (RR – 11,7; OR – 13,1; $p = 0,0006$).

Выявленные в гене *BRCA2* оказались преимущественно соматическими, что также соответствует данным предшествующих исследований, и позволяет предположить больший вклад данного молекулярно-генетического изменения в патогенез спорадических форм рака.

Также обращает на себя внимание выявление у двух пациенток и четырех здоровых доноров полиморфизма *CHEK2*с.470T>C. Несмотря на то, что данный молекулярно-генетический вариант характеризуется средней пенетрантностью и, вероятно, не увеличивает суммарный риск развития РЯ (OR – 0,41; $p = 0,43$), отрицать вклад данного полиморфизма в патогенез РЯ в случае уже свершившегося запуска канцерогенеза было бы ошибочным. Кроме того, подтверждение носительства данного молекулярно-генетического варианта может являться потенциальным показанием для назначения таргетной терапии PARP-ингибиторами, наравне с носительством мутаций в генах *BRCA1/2* в связи с их общим вкладом в процесс репарации двухцепочечных разрывов ДНК, что значительно повлияет на прогноз и выживаемость пациенток.

Таким образом, в ходе исследования полиморфизм *CHEK2*с.470T>C был обнаружен у 2,7 % обследованных женщин общей выборки (6 случаев из 220). Полученные данные свидетельствуют о целесообразности включения данного генетического варианта в молекулярно-генетическую панель для обследования

пациенток в Крыму.

Для анализа этноспецифических особенностей патогенеза проведено сравнение славянской подгруппы основной и контрольной группы. Среди пациенток носительство герминальных мутаций выявлено в 16,8 % случаев, среди здоровых доноров – 5,3 %. Детальный анализ значимости выявленных молекулярно-генетических вариантов в патогенез РЯ представлен в таблице 7.

Таблица 7 – Вклад герминальных молекулярно-генетических вариантов генов *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* в патогенез РЯ пациенток славянской этнической группы

Ген / Вариант	Частота в основной группе (n=101)	Частота в контрольной группе (n=75)	Отношение шансов (OR)
<i>BRCA1</i>	13,9 % (14)	1,3 % (1)	11,91
c.5266dupC	6,9 % (7)	1,3 % (1)	5,51
c.4035delA	4,0 % (4)	–	~7,0
c.181T>G	2,0 % (2)	–	~3,8
c.68_69del	1,0 % (1)	–	~2,25
<i>BRCA2</i> (c.3749dupA)	1,0 % (1)	–	~2,25
<i>CHEK2</i> (c.470T>C)	2,0 % (2)	4,0 % (3)	0,48

Таким образом, инактивирующие герминальные мутации *BRCA1* являются ведущим механизмом молекулярно-генетического патогенеза РЯ для женщин, принадлежащих к славянской когорте крымских пациентов (OR = 11,91, $p = 0,0017$). Наиболее значимым является патогенный вариант c.5266dupC (OR = 5,51). Мутации c.4035delA и c.181T>G (OR = 7,0 и 3,8) также демонстрируют четкую связь с заболеванием и значимый вклад в патогенез заболевания, несмотря на отсутствие в контрольной группе. Наименьшее патогенетическое значение для данной выборки продемонстрировал вариант c.68_69del (OR = 2,25), что, вероятно связано с малым количеством наблюдений.

Выявленная герминальная мутация *BRCA2*c.3749dupA также обладает значимым вкладом в патогенез РЯ (OR = 2,25) для славян; важной находкой

является обнаружение носительницы данного молекулярно-генетического варианта у крымской пациентки, так как данная мутация не входит в панель «горячих точек».

В свою очередь, носительство мутации *CHEK2*c.470T>C характеризовалось минимальным вкладом в увеличение риска развития РЯ для славянок (OR = 0,48, p = 0,658). Вероятно, вклад данного молекулярно-генетического варианта как пускового механизма патогенеза РЯ в славянской когорте пациенток минимален.

В то же время вклад тех же мутаций в патогенез РЯ в крымскотатарской подгруппе пациенток минимален. Носительницы исследованных вариантов не были выявлены в основной группе; в контрольной группе выявлена одна носительница полиморфизма *CHEK2*c.470T>C, что также подчеркивает минимальный вклад в патогенез РЯ и для крымских татарок (OR = 0,48, p = 1,0).

Отрицательный результат при проведении исследования среди крымских татарок, включенных в группу исследования, несмотря на наличие отягощенного семейного анамнеза по онкологическим заболеваниям и других клинических признаков наследственной формы РЯ (ранний возраст манифестации, первично-множественные опухолевые поражения), является сигналом необходимости продолжения исследований на больших выборках с использованием более сложных и чувствительных методов МГИ, включая полногеномное секвенирование, таргетное секвенирование, а также поиск эпигенетических изменений регуляции активности генов.

Таким образом, патогенез рака яичников у славянок тесно связан с мутациями в гене *BRCA1* (особенно с.5266dupC), тогда как у крымских татарок изученные молекулярно-генетические варианты не играют значимой роли. Это указывает на этническую гетерогенность наследственного рака яичников и необходимость разработки дифференцированных подходов к генетическому тестированию и профилактике в разных популяционных группах. Для крымскотатарской популяции требуется расширенный поиск новых кандидатных генов и набор более репрезентативных выборок. Кроме того, полученные результаты, несмотря на общее соответствие общероссийским тенденциям,

демонстрируют в том числе и некоторые отличия и подчеркивают важность проведения научных исследований в данном направлении. Это позволяет не только подтвердить текущие выводы, но и выявить скрытые закономерности, не обнаруженные прежде.

ГЛАВА 4. ВКЛАД НЕНАСЛЕДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ РИСКА В ФОРМИРОВАНИЕ ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ РАКА ЯИЧНИКОВ

В ходе исследования были проанализированы данные о наличии или отсутствии ненаследственных факторов риска в патогенез РЯ в исследованной выборке пациентов. При опросе пациентов и дальнейшем анализе данных, факторы были условно разделены на модифицируемые (заместительная гормональная терапии в постменопаузальном периоде, не реализованная репродуктивная функция, синдром поликистозных яичников в анамнезе, ожирение, курение) и факторы, не поддающиеся модификации (раннее менархе, инкурабельное бесплодие). При этом в случае наличия ожирения, курения и проведении ЗГТ в постменопаузальном периоде необходимо указание длительности воздействия фактора.

При оценке влияния перечисленных факторов учитывались следующие факторы: общий стаж курения, длительность наличия ожирения, длительность проведения ЗГТ и др. (таблица 8).

Таблица 8 – Критерии учета ненаследственных факторов риска

Фактор	Критерий
Курение	Общий стаж курения ≥ 10 лет
Ожирение	≥ 5 лет с ИМТ $> 29,9$
ЗГТ в постменопаузальном периоде	≥ 3 года непрерывного приема
Бесплодие	≥ 5 лет безуспешных попыток зачатия
СПКЯ	Диагностирован ≥ 5 лет до выявления РЯ
Раннее менархе	Начало менструации раньше 12 лет

Всего наличие одного или нескольких из указанных факторов отметили 54 пациентки (45 %; 54/120). Лишь две пациентки (1,6 %) указали на наличие

немодифицируемого фактора риска (раннее менархе); в остальных случаях указанные факторы относились к категории модифицируемых факторов. Подробная структура выявленных факторов рисков указана на рисунке 11.

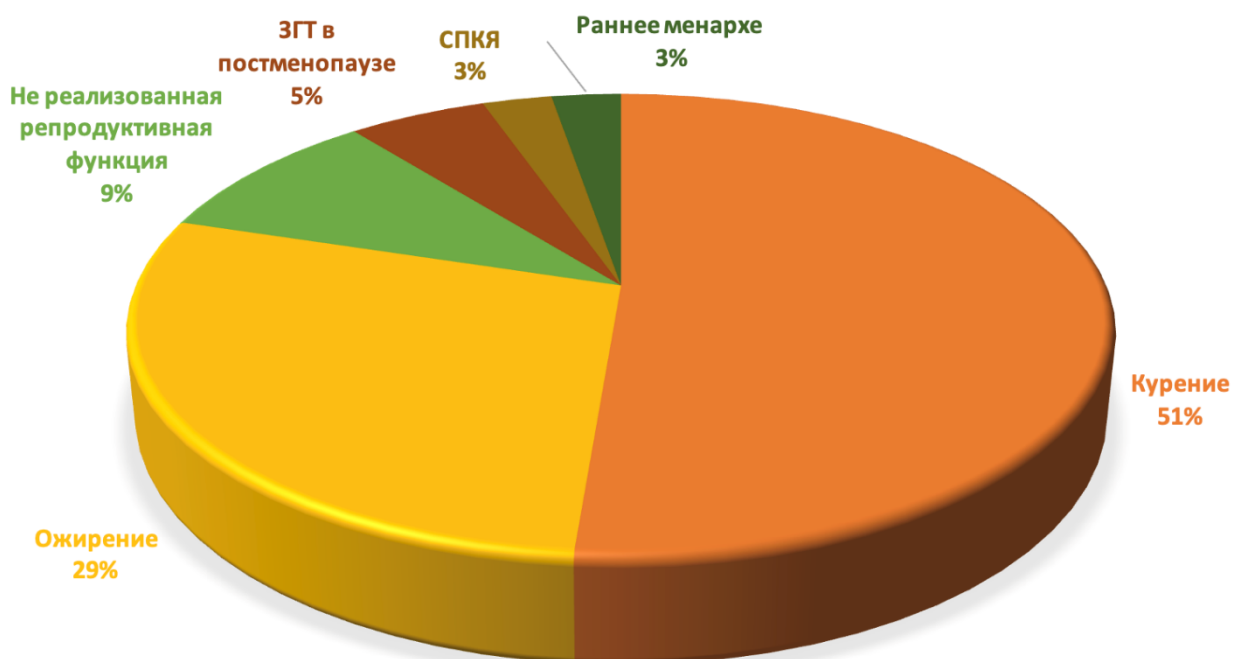


Рисунок 11 – Компонентный состав выявленных ненаследственных факторов онкологического риска РЯ в основной группе исследования

Таким образом, по данным проведенного анкетирования, наиболее часто встречающимся фактором риска среди пациенток основной группы является курение, на долю которого пришлось около 51 % (31,7 % от общей выборки). По данным анкетирования, подтвержденным дальнейшим расчетом ИМТ, у 21 пациентки (29 % среди факторов риска; 17,5 % от общей выборки) отмечено наличие ожирения (таблица 9). У 7 пациенток (9 %; 5,8 % от общей выборки) отмечена не реализованная репродуктивная функция, 4 пациентки (5 %; 3,3 % от общей выборки), у 2 пациенток в анамнезе отмечено наличие СПКЯ и у также 2 пациентки отметили раннее менархе (3 %; 1,7 % от общей выборки).

Анализ результатов анкетирования также продемонстрировал, что в большинстве случаев у пациенток определялось наличие одного фактора риска

(28,3 %), в то время как 16,7 % случаев характеризовались присутствием комбинации двух или более ненаследственных факторов (таблица 10).

Таблица 9 – Распределение пациенток основной группы в соответствии с ИМТ

ИМТ	Градация	Абсолютная частота	Относительная частота
16 и менее	Выраженный дефицит массы тела	1	0,8%
16,0-18,4	Дефицит массы тела	4	3,3 %
18,5-24,9	Норма	68	56,7 %
25,0-29,9	Избыточная масса тела	26	21,7 %
30,0-34,9	Ожирение I степени	11	9,2 %
35,0-39,9	Ожирение II степени	7	5,8 %
40 и более	Ожирение III степени	3	2,5 %

Таблица 10 – Тепловая карта сочетаний факторов риска у пациенток основной группы*

Фактор	Курение	Ожирение	НРРФ	ЗГТ	СПКЯ	Раннее менархе
Курение	38	12	5	3	1	1
Ожирение	12	21	4	2	2	0
НРРФ	5	4	7	1	0	0
ЗГТ	3	2	1	4	0	0
СПКЯ	1	2	0	0	2	0
Раннее менархе	1	0	0	0	0	2

*Цветовое кодирование: ярко-красный: 12-38 случаев (максимальные значения); оранжевый: 4-11 случаев; желтый: 2-3 случая; белый: 0-1 случай.

Таким образом, наиболее распространенной комбинацией факторов в исследуемой выборке является комбинация курения и ожирения (12 %), вторыми

по значимости являются сочетания курения и репродуктивных нарушений (4,7 %), а также избыточной массы тела и репродуктивных нарушений (3,3 %).

Анализ контрольной группы с учетом аналогичных критериев показал, что наличие ненаследственных факторов риска зафиксировано у 31 % (31/100) исследованных здоровых доноров. В большинстве случаев подтверждено наличие одного фактора риска (25 %; 25/100) Все выявленные факторы относились к категории модифицируемых (рисунок 12).

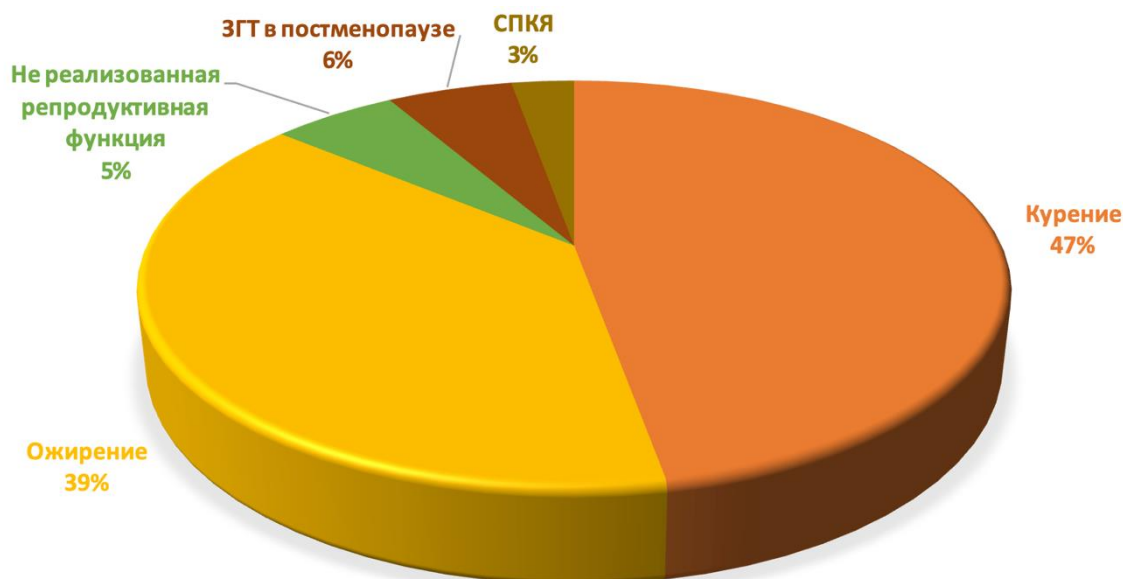


Рисунок 12 – Компонентный состав выявленных ненаследственных факторов онкологического риска в группе контроля

Таким образом, как в основной, так и в контрольной группе доминирующим ненаследуемым фактором риска является курение, которое отметили 55/220 (25 %) всех обследованных женщин. При проведении оценки относительных рисков по каждому фактору курение также характеризовалось наибольшим показателем относительного риска развития РЯ (таблица 11).

По результатам анализа относительных рисков развития РЯ при сочетанном воздействии факторов, можно сделать вывод о значимом влиянии комбинации курения и ожирения ($RR = 3,33$, $ДИ = 0,97-11,48$); относительно прочих комбинаций необходимо проведение дальнейших исследований на расширенных

выборках. Потенциальный патогенетический механизм синергического воздействия курения и ожирения можно объяснить развитием и потенцированием окислительного стресса, хронического воспаления и нарушением метаболизма эстрогенов.

Таблица 11 – Показатели относительного риска для каждого выявленного фактора

Фактор риска	Основная группа	Контрольная группа	RR доверительный интервал	Интерпретация
Курение	38 / 82	17 / 83	2.21 (1,36–3,61)	Повышает риск в 2,2 раза
Ожирение	21/99	14/86	1.30 (0,71-2,39)	Незначимый эффект
НРРФ	7/113	2/98	3.03 (0,65–14,2)	Тенденция к риску
ЗГТ в менопаузе	4/116	2/98	1.69 (0,32–8,98)	Незначимый эффект
СПКЯ	2/118	1/99	1.68 (0,15–18,4)	Незначимый эффект
Раннее менархе	2/118	0/100	–	–

Анализ распространенности и значимости ненаследуемых факторов риска в этнических подгруппах также показал некоторые отличия. Так, среди пациенток основной группы, принадлежащих к крымскотатарскому этносу, наличие ненаследственных факторов риска было отмечено у 7 пациенток (36,8 %), в то время как среди славянок – у 47 пациенток (46,5 %). Среди здоровых крымских татарок наличие факторов риска выявлено у 6 женщин (24 %), среди славянок – 25 женщин (33,3 %). Статистически значимых различий между этническими подгруппами как среди пациенток, так среди здоровых доноров не выявлено ($p = 0,614$ и $p = 0,478$ соответственно). Подробное распределение по категориям факторов риска приложено в таблицах 12 и 13.

Таблица 12 – Ненаследуемые факторы риска у крымских татарок

Фактор риска	Больные (n=19)	Здоровые (n=25)	OR	95% ДИ	p
Курение	2 (10,5%)	1 (4%)	2,82	0,24 – 33,7	0,56
Ожирение	5 (26,3%)	6 (24%)	1,13	0,29 – 4,46	1,0

Таблица 13 – Ненаследуемые факторы риска у славянок.

Фактор риска	Больные (n=101)	Здоровые (n=75)	OR	95% ДИ	p
Курение	36 (35,6%)	15 (20%)	2,22	1,11 – 4,46	0,014
Ожирение	16 (15,8%)	8 (10,7%)	1,58	0,64 – 3,91	0,39
Нереализованная репродуктивная функция	7 (6,9%)	2 (2,7%)	2,72	0,55 – 13,5	0,31
ЗГТ	4 (4,0%)	2 (2,7%)	1,51	0,27 – 8,47	1,0
СПКЯ	2 (2,0%)	1 (1,3%)	1,49	0,13 – 16,8	1,0

Таким образом, вклад ненаследуемых факторов риска в патогенез РЯ у крымских татарок ограничен по результатам данного исследования, однако необходимо учитывать погрешность на маленький размер выборки. В изученной выборке славянок курение показало статистически значимую связь с повышенным риском РЯ (OR = 2,22; p = 0,014). Остальные факторы (ожирение, отсутствие родов, ЗГТ, СПКЯ) демонстрируют тенденцию к повышению риска, но не достигают статистической значимости, вероятно, из-за недостаточного числа наблюдений.

Несмотря на то, что анализ относительных рисков выявил значимое влияние отдельных факторов и их комбинаций на развитие РЯ, особый интерес представляет оценка распределения этих факторов среди носительниц мутаций.

Особенно анализ комбинации наследственных и ненаследственных факторов интересен в контексте изучения возможности влияния на индивидуальный онкологический риск носительниц герминальных мутаций

Среди носительниц мутаций наиболее часто встречаемым ненаследственным фактором риском в исследуемой выборке являлось курение, которое отметили 28,6 % носительниц мутаций (6/21); ожирение было идентифицировано у 14,3 % (3/21) и использование ЗГТ в менопаузе у 9,5 % (2/21) носительниц соответственно (рисунок 13).

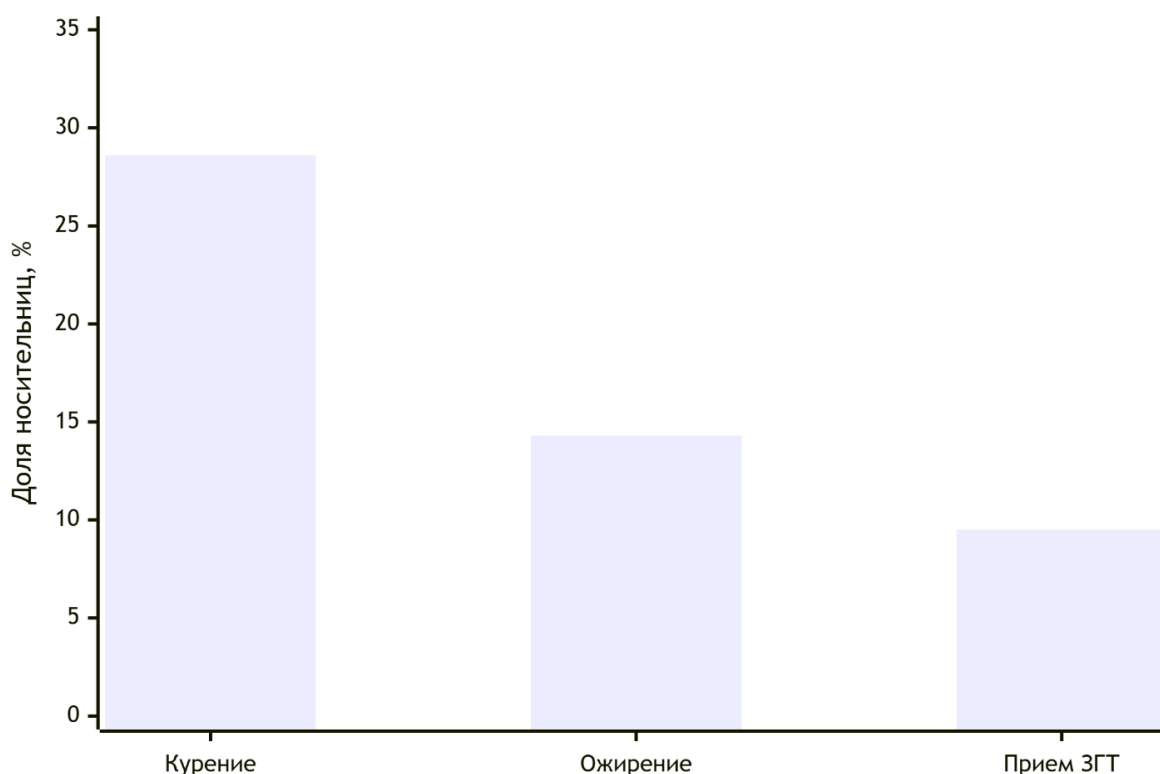


Рисунок 13 – Распространенность ненаследственных факторов риска среди носительниц мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*

Таким образом, полученные данные демонстрируют значимую роль отдельных ненаследственных, в частности, экзогенных модифицируемых факторов риска и их комбинаций в патогенезе РЯ. В исследуемой выборке наиболее выраженную ассоциацию с развитием РЯ продемонстрировало курение, а также сочетание курения и ожирения, что согласуется с мировыми данными.

Такие результаты подчеркивают значимость персонализации

профилактических подходов, которые учитывали как генетическую предрасположенность, так и ненаследственные факторы риска. Выявление и анализ данных факторов, включая прежде всего, курение и ожирение, позволяет сформировать и своевременно воздействовать на приоритетные мишени профилактики путем интенсификации скрининговых и превентивных программ.

ГЛАВА 5. КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ РАКА ЯИЧНИКОВ В ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУППАХ

5.1 Клинико-морфологические особенности рака яичников, ассоциированного с мутациями в исследуемых генах, и их патофизиологическое значение

По завершению этапа МГИ женщины основной группы были разделены на две подгруппы для проведения анализа и сравнения клинико-морфологических параметров в группе пациентов с выявленными патогенными вариантами исследуемых генов ($n_1=21$) и пациентов, генетические нарушение у которых не были обнаружены в рамках данного исследования ($n_2=99$). Подробный результат анализа представлен в таблице 14.

Таблица 14 – Клинико-морфологические характеристики группы пациенток с выявленными мутациями в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* и группы пациенток, мутации у которых не были идентифицированы

Показатели	<i>BRCA1+</i> , <i>BRCA2+</i> , <i>CHEK2+</i> РЯ	<i>BRCA1-</i> , <i>BRCA2-</i> , <i>CHEK2-</i> РЯ	р	Всего
Число больных	$n_1 = 21$	$n_2 = 99$	–	120
Средний возраст	$52,8 \pm 9,4$	$62,6 \pm 8,9$	0,0001	$61,3 \pm 9,2$
Возраст манифестации заболевания				
До 50 лет	13 (61,9 %)	24 (24,2 %)	0,0006	37 (30,8 %)
После 50 лет	8 (38,1 %)	75 (75,8 %)		83 (69,2 %)
Степень дифференцировки опухоли				
G1	1 (4,8 %)	18 (18,2 %)	–	19 (15,8 %)
G2	5 (23,8 %)	8 (8,1 %)	0,03	13 (10,8 %)
G3	15 (71,4 %)	73 (73,7 %)	0,82	88 (73,4 %)
Гистологический тип опухоли				
Серозная	18 (85,7 %)	94 (94,9 %)	0,13	112 (93,3 %)
Эндометриоидная	3 (14,3 %)	2 (2,0 %)	0,02	5 (4,2 %)
Муцинозная	–	2 (2,0 %)	–	2 (1,7 %)
Смешанная	–	1 (1,1 %)	–	1 (0,8 %)

Продолжение таблицы 14

Монолатеральный/билатеральный РЯ				
Монолатеральный	2 (9,5 %)	5 (5,1 %)	0.33	7 (5,8 %)
Билатеральный	19 (90,5 %)	94 (94,9 %)		113 (94,2 %)
Распределение по стадиям по FIGO				
I	7 (33,3 %)	11 (11,1 %)	0.009	18 (15 %)
II	2 (9,5 %)	7 (7,1 %)		9 (7,5 %)
III	11 (52,4 %)	72 (72,7 %)	0.016	83 (69,2 %)
IV	1 (4,8 %)	9 (9,1 %)		10 (8,3 %)
Семейный анамнез (ЗНО у родственников I-II линии родства)				
Присутствует	16 (76,2 %)	45 (45,5 %)	0.0067	61 (50,8%)
Отсутствует	5 (23,8 %)	54 (54,5 %)		59 (41,2%)
Первично-множественные синхронные и метахронные ЗНО				
Да	4 (19,0 %)	5 (5,1 %)	0.027	10 (8,3 %)
Нет	17 (81,0 %)	94 (94,9 %)		110 (91,7 %)

Анализ клинико-морфологических характеристик сравниваемых подгрупп показал, что диагноз РЯ, ассоциированного с патогенными вариантами исследуемых генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* чаще был установлен на ранних стадиях (I-II по FIGO) по сравнению с группой, в которой мутации выявлены не были (42,8 % и 18,2 % соответственно, $p = 0,009$, OR = 3,38 (95 % ДИ: 1,3–8,8). Такое распределение может быть связано с двумя основными причинами: биологические особенности опухоли (более агрессивное течение, появление ранней симптоматики) и проведением более активного скрининга в данной группе, в том числе, в рамках регулярных профилактических осмотров.

Гистологически в обеих группах заболевание было представлено преимущественно серозными карциномами (93,3 %), статистически значимых различий между ними не выявлено ($p = 0,13$) (рисунок 14, 15). В группе носительниц мутаций выявлено три случая эндометриоидной карциномы (14,3 %), при этом все три случая ассоциированы с мутациями в гене *BRCA1*, при этом у двух пациенток также подтвержден факт ПМСЗНО (РЯ + рак тела матки). Статистически носительство мутаций ассоциировано с повышением частоты развития эндометриоидной карциномы ($p = 0,02$, (OR) = 8,1 (95 % ДИ: 1,2–53,1).

Наиболее редким типом рака являлись муцинозные и смешанные карциномы (1,7 % и 0,8 % соответственно), при этом среди носительниц мутаций данные варианты выявлены не были.

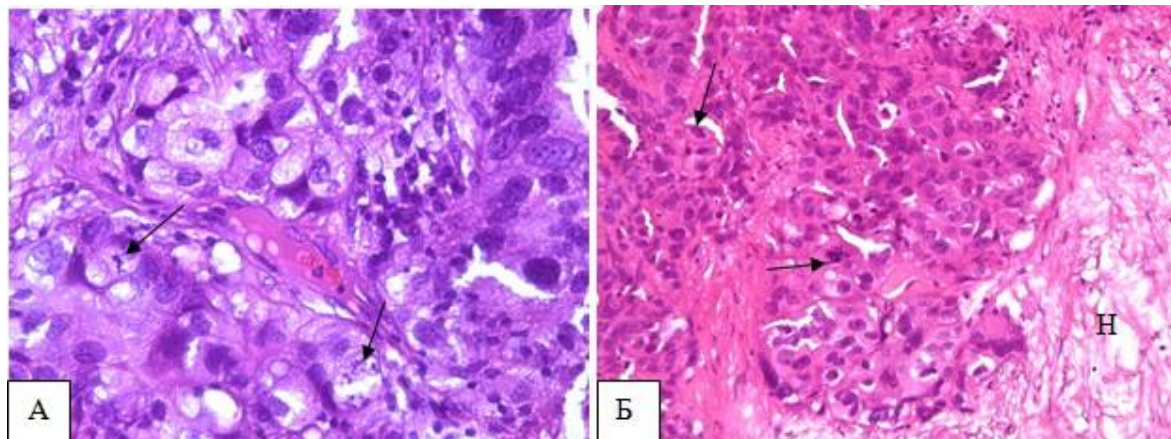


Рисунок 14. А, Б – Серозная карцинома High Grade солидно-криброзного строения, ассоциированная с мутацией *BRCA1*c.4035delA с атипическими митозами (черная стрелка) и некрозом (H).

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 40х

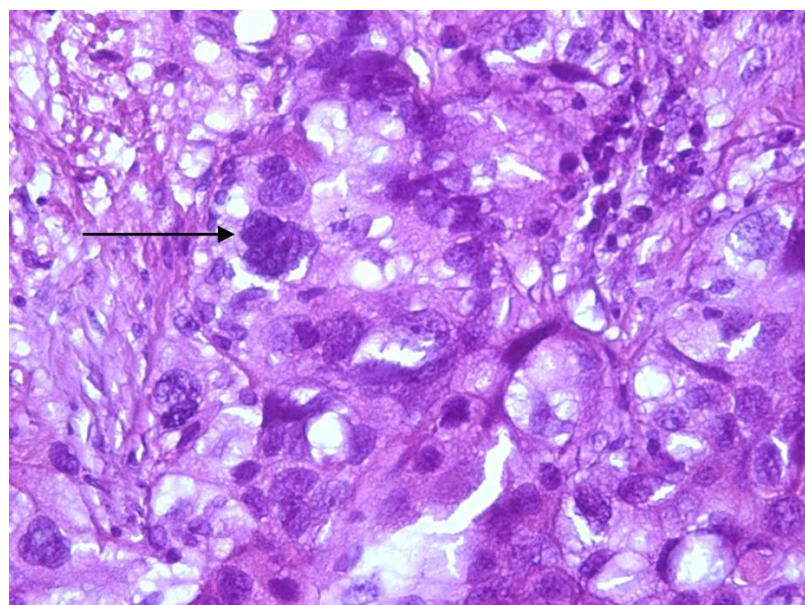


Рисунок 15 – Серозная карцинома High Grade, ассоциированная с мутацией *CHEK2*c.470T>C, с выраженной ядерной атипией и наличием многоядчатых ядер (стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 40х

Преобладающим вариантом в исследованной выборке являлись опухоли низкой степени дифференцировки (степень злокачественности G3 (High-Grade) –

73,4 % ($p = 0,82$). В свою очередь, средняя степень злокачественности (G2) более часто встречалась в группе носительниц мутаций (23,8 %, $p = 0,03$, OR = 3,6 (95 % ДИ: 1,1–12,1), а низкая (G1) – в группе пациенток без идентифицированных мутаций (18,2 %).

Иммуногистохимически исследованные серозные карциномы в большинстве случаев характеризовались выраженной ядерной экспрессией маркеров WT1, Estrogen, очаговой умеренной экспрессией Progesterone и CK7. Во всех случаях синхронных и метасинхронных раков яичника и молочной железы проводилось ИГХ исследование с маркером GATA3 для дополнительного подтверждения первичного очага опухолевого роста (рисунок 16).

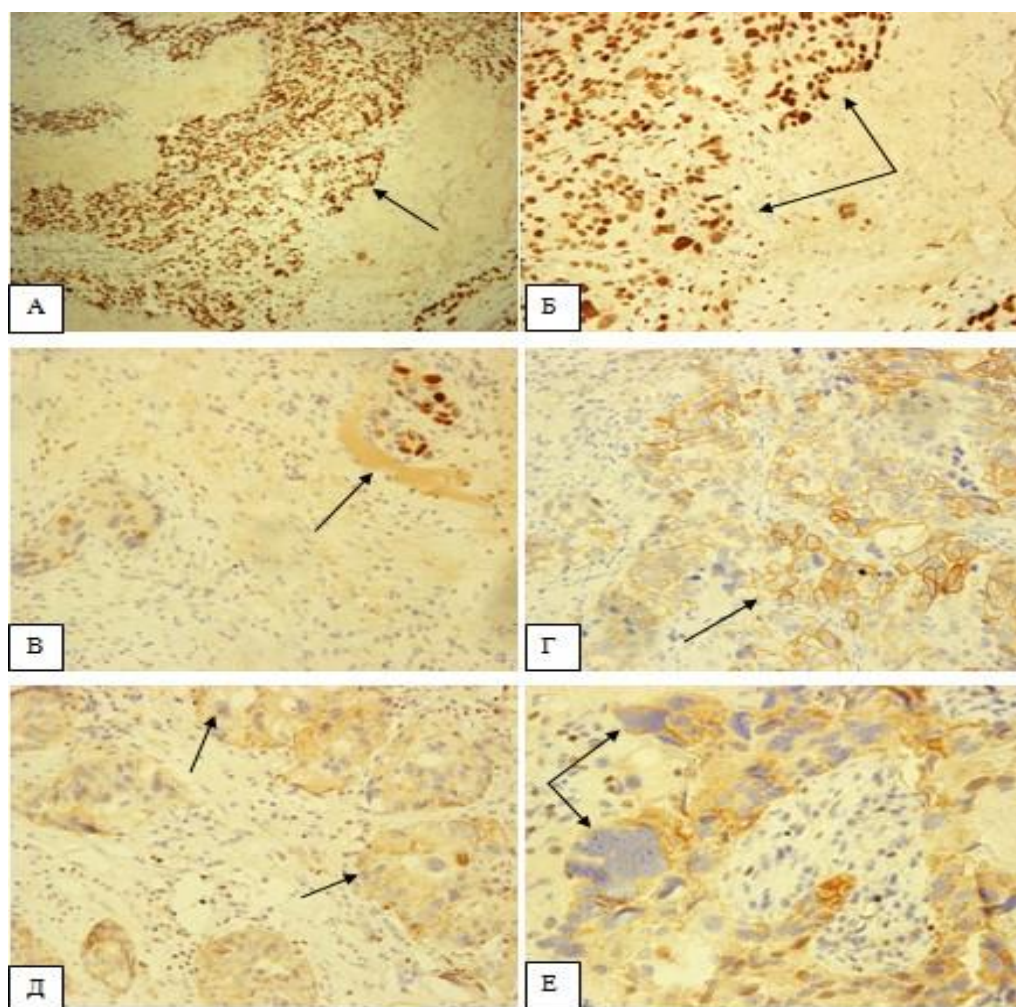


Рисунок 16 – Серозная карцинома High Grade, ассоциированная с мутацией *BRCA1*c.68_69del

А – Позитивная ядерная реакция в клетках опухоли с маркером WT1. ИГХ.

Ув. 10х.

Б – Позитивная ядерная реакция в клетках опухоли с маркером Estrogen. ИГХ. Ув. 20х.

В – Очаговая позитивная ядерная реакция в клетках опухоли с маркером Progesteron. Ув. 20х.

Г – Позитивная мембранно-цитоплазматическая реакция в клетках опухоли с маркером СК7. Ув. 10х.

Д – Негативная ядерная реакция с маркером GATA3 в опухолевых клетках. Позитивное фоновое цитоплазматическое окрашивание. ИГХ. Ув. 20х.

Е – Негативная ядерная реакция с маркером GATA3 в многоядерной опухолевой клетке. Позитивное фоновое цитоплазматическое окрашивание. ИГХ. Ув. 20х.

При этом билатеральное поражение яичников характеризуется одинаково частой встречаемостью в обеих группах (94,2 % в общей выборке, 90,5 % и 94,9 % среди носительниц мутаций и в группе без мутаций соответственно, $p = 0,33$). Такие результаты демонстрируют отсутствие или слабую связь между одновременным поражением парных органов и формой заболевания (наследственной или спорадической) в случае РЯ несмотря на то, что в случае с другими онкологическими заболеваниями (например, РМЖ), билатеральное поражение парных органов является одним из важнейших критериев наследственной природы заболевания.

В нашем исследовании также подтверждено статистически значимое влияние наличия мутаций на увеличение риска развития как синхронных, так и метасинхронных сочетанных опухолевых поражений ($p = 0,027$, OR = 4,42, 95 % ДИ = 1,08–18,2). При этом наличие первично-множественных новообразований ассоциировано с носительством герминогенных мутаций в гене *BRCA1*, а все случаи представлены синхронным или метасинхронным сочетанием РЯ и РМЖ или РЯ и рака тела матки (таблица 15).

Анализ возрастных характеристик исследуемых групп показал, что средний возраст группы пациенток-носительниц мутаций на десять лет меньше, чем

средний возраст группы пациенток без мутаций ($p = 0,0001$). В то же время *BRCA1*-, *BRCA2*- и *CHEK2*-ассоциированный рак характеризовался более ранним возрастом дебюта заболевания: в 61,9 % диагноз РЯ был установлен в возрасте до 50 лет, в то время как во второй группе диагноз был установлен в возрасте до 50 лет лишь в 24,2 % случаев ($p = 0,0006$, OR = 5,08 (95 % ДИ: 1,94–13,6), что подтверждает важность учета возрастного показателя при определении индивидуального плана диагностики.

Таблица 15 – Характеристика случаев первично множественных злокачественных заболеваний, ассоциированных с мутациями в гене *BRCA1*

Генетический вариант	Возраст, лет	Локализация поражения	Время выявления	Первично выявленная опухоль
с.5266dupC	63	РЯ	метахронное	Молочная железа
		РМЖ		
с.5266dupC	51	РЯ	синхронное	Тело матки Яичники
		Рак тела матки		
с.181T>G	49	РЯ	синхронное	Молочная железа Яичники
		РМЖ		
с.4035delA	44	РЯ	метахронное	Тело матки
		Рак тела матки		

Также необходимо отметить, что пик заболеваемости в группе носительниц мутаций пришелся на диапазон от 40 до 49 лет, в то время как для группы пациенток, у которых мутации не были выявлены – от 60 до 69 лет. Подробный возрастной состав исследуемых групп представлен в таблицах 16 и 17.

Таким образом, наряду с преобладанием ранней манифестации, пик заболеваемости в группе пациенток с мутациями приходится на более молодой возраст по сравнению с группой пациенток, у которых мутации не были детектированы (40-49 лет, 47,6 % случаев и 50-69 лет, 67,6 % случаев

соответственно). Такие тенденции согласуются с известными данными о более раннем запуске канцерогенеза РЯ у носительниц герминогенных мутаций в генах наследственной предрасположенности [16].

Таблица 16 – Возрастной состав исследуемых групп

Возраст (в годах)	<i>BRCA1+</i> , <i>BRCA2+</i> , <i>CHEK2+</i> РЯ n1 = 21		<i>BRCA1-</i> , <i>BRCA2-</i> <i>CHEK2-</i> РЯ n2 = 99		p
	Абс.	%	Абс.	%	
25-34	1	4,8	3	2,0	0,438
35-44	3	14,3	4	4,0	0,089
45-54	7	33,3	21	21,2	0,263
55-64	8	38,1	46	46,5	0,492
65-79	2	9,5	26	26,3	0,156
Средний возраст	52,8 ± 9,4		62,6 ± 8,9		<0,0001

Таблица 17 – Возраст манифестации РЯ в исследуемых группах

Возраст (в годах)	<i>BRCA1+</i> , <i>BRCA2+</i> , <i>CHEK2+</i> РЯ n1 = 21		<i>BRCA1-</i> , <i>BRCA2-</i> <i>CHEK2-</i> РЯ n2 = 99		p
	Абс.	%	Абс.	%	
25-39	3	14,3	4	4,0	0,078
40-49	10	47,6	20	20,2	0,012
50-59	5	23,8	33	33,3	0,428
60-69	3	14,3	34	34,4	0,089
70-79	0	0	8	8,1	–

Важным этапом являлся анализ наследственной предрасположенности и наличия отягощенной наследственности по онкологическим заболеваниям в исследуемых группах. Изучение наследственности осуществлялось с помощью

индивидуального анкетирования и анализа медицинской документации пациенток. Так, наличие ЗНО у родственников I-II линии родства отмечено у 50,8% пациенток исследованной выборки в целом.

Дальнейший анализ продемонстрировал, что наличие мутаций достоверно ассоциировано с наличием отягощенного наследственного анамнеза по онкологической заболеваемости ($p = 0,0067$, $OR = 3,84$, 95 % ДИ: 1,38–10,68). Подробный онкологический анамнез пациенток из исследованных групп представлен в таблице 18.

Таблица 18 – Наследственный онкологический анамнез носительниц мутаций и пациенток без исследуемых мутаций

Данные анамнеза	<i>BRCA1+</i> , <i>BRCA2+</i> , <i>CHEK2+</i> РЯ n1 = 21		<i>BRCA1-</i> , <i>BRCA2-</i> <i>CHEK2-</i> РЯ n2 = 99		p
	Абс.	%	Абс.	%	
ЗНО яичников у родственников I-II линии	2	9,5	12	12,1	1,000
ЗНО молочных желез у родственников I-II линии	13	61,9	28	28,3	0,006
Опухоли другой локализации у родственников I-II линии	1	4,8	5	5,1	1,000

Таким образом, наличие мутаций статистически значимо ассоциировано с семейными случаями РМЖ ($p = 0,006$, $OR = 3,98$, 95 % ДИ: 1,45-10,9).

Отсутствие статистически значимых различий между сравниваемыми группами по частоте выявления других злокачественных новообразований, в том числе РЯ, может объясняться несколькими факторами: гиподиагностикой в рамках МГИ, ассоциацией случаев с патогенными вариантами в других генах, недостаточной полнотой данных о заболеваемости среди родственников вследствие низкой медицинской грамотности пациентов.

В спектре неоплазий других локализаций, которые отмечали носительницы мутаций, можно отметить рак предстательной железы, рак желудка, злокачественные опухоли головного мозга, колоректальный рак (рисунок 17).

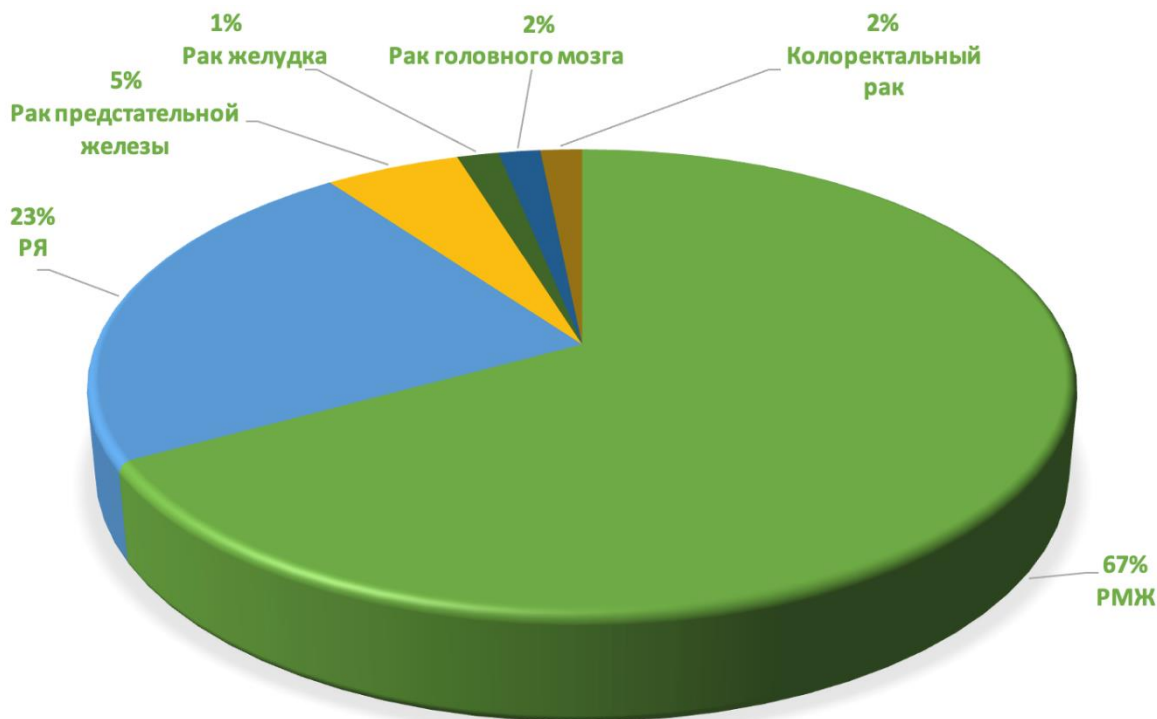


Рисунок 17 – Структура онкологической заболеваемости среди родственников I-II степени родства исследуемой выборки

В процессе анализа семейного анамнеза по онкологическим заболеваниям в группе пациенток-носительниц мутаций отмечена высокая частота встречаемости РМЖ у матери (12/21; 57,1 %), реже встречался РЯ у матери (2/21; 9,5 %). У 1 пациентки РМЖ был выявлен у бабушки и у 1 у тети по материнской линии (4,8 %). Для больных, у которых мутации не были выявлены, встречаемость РМЖ у матери установлена у 19 пациенток (19/99; 19,1 %), у сестры – у 5 пациенток (5,0 %), у бабушки – у 3 пациенток (3/99; 3,0 %). В свою очередь РЯ у матери выявлен у 8 пациенток (8/99; 8,1 %), у сестры – 3 пациентки (3/99; 3,0%), у тети – 4 пациентки (4/99; 4,0 %), у бабушки (1/99; 1,0 %) (таблица 19).

Одним из наиболее важных скрининговых методов при диагностике РЯ

является определение концентрации биохимических онкомаркеров – СА-125, He4 и расчет индекса ROMA (Risk of ovarian malignancy algorithm), который учитывает показатели обоих маркеров для анализа риска развития злокачественного новообразования яичников [26].

Таблица 19 – Встречаемость РМЖ и РЯ у родственников пациенток исследуемой группы

Данные анамнеза	<i>BRCA1+</i> , <i>BRCA2+</i> , <i>CHEK2+</i> РЯ n1 = 21		<i>BRCA1-</i> , <i>BRCA2-</i> <i>CHEK2-</i> РЯ n2 = 99		p
	Абс.	%	Абс.	%	
РМЖ					
Мама	12	57,1	19	19,1	0,0002
Сестра	0	–	5	5,0	–
Бабушка (по материнской линии)	1	4,8	3	3,0	0,466
Другие родственники	1	4,8	0	–	–
РЯ					
Мама	2	9,5	8	8,1	0,67
Сестра	0	–	3	3,0	–
Бабушка (по материнской линии)	0	–	1	1,0	–
Другие родственники	0	–	4	4,0	–

Ретроспективный анализ уровней биохимических онкомаркеров показал, что до начала любого вида лечения (хирургический, ПХТ) концентрация СА-125 определялась у 93 пациенток (77,5 %), у оставшихся 27 пациенток (22,5 %) – данные отсутствуют/уровни не определялись. При этом диагноз у большинства из этих пациенток (20/27; 74,1 %) был установлен до 2020 года, что свидетельствует о популяризации данного скринингового метода и усовершенствовании диагностики и оказания помощи онкологическим больным в последние 5 лет. Также с учетом давности ведения медицинской документации, данные могли быть

частично утеряны. При этом повышенный уровень СА-125 отмечался у 100 % исследованных пациенток.

Для более точного и полного представления данных пациентки также были разделены на подгруппы, согласно менструальной функции – предменопауза и постменопауза на момент определения концентрации онкомаркеров (таблица 20).

Таблица 20 – Концентрация онкомаркера СА-125 в зависимости от менструальной функции

Характеристики	Предменопауза	Постменопауза	p*	Всего
Количество наблюдений	n1 = 28	n2 = 65	0,0021	93
Среднее содержание (Ед/мл)	291,9	185,9		265,3
Стандартное отклонение	182,4	111,9		164,2
Медиана	273,5	169,0		213,0
IQR (межквартильный размах)	180,0	148,0		225,0

*критерий Манна-Уитни (тест Шапиро-Уилка <0,05 для обеих групп)

Таким образом, для пациенток исследованной выборки в предменопаузе выборке характерны более высокие значения биохимического онкомаркера СА-125 ($p = 0,0021$), что подтверждает обоснованность использования более высоких референтных значений онкомаркера для данной группы с целью исключения ложноположительных результатов и повышения специфичности исследования.

В свою очередь, среди носительниц мутаций до начала лечения содержание онкомаркера СА-125 определялось у 20 пациенток (20/21; 9,2 %). Подробный анализ представлен в таблице 21.

Анализ показателей онкомаркера СА-125 в подгруппе пациенток с выявленными мутациями и без них показал статистически значимые различия как между общими выборками, так и в выборках, разделенных в соответствие с менструальной функцией. При этом различия между носительницами мутаций в

пременопаузальном и постменопаузальном периоде не значимы ($p=0,363$). Такие показатели свидетельствуют о необходимости обязательного проведения молекулярно-генетических исследований в случае обнаружения выраженного повышения концентрации СА-125 в крови (более 250 Ед/мл) вне зависимости от менструальной функции (рисунок 18).

Таблица 21 – Концентрация онкомаркера СА-125 в зависимости от менструальной функции у носительниц мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* и у пациенток без выявленных мутаций

Характеристики	Предменопауза	Постменопауза	Всего
<i>BRCA1+</i> , <i>BRCA2+</i> , <i>CHEK2+</i> РЯ			
Количество наблюдений	n1 = 14	n2 = 6	20
Среднее содержание (Ед/мл)	403,6	298,5	369,1
Стандартное отклонение	128,9	146,1	164,3
Медиана	355,0	273,5	345,5
IQR (межквартильный размах)	223,3	291,5	224,5
<i>BRCA1-</i> , <i>BRCA2-</i> <i>CHEK2-</i> РЯ			
Количество наблюдений	n1 = 14	n2 = 59	73
Среднее содержание (Ед/мл)	190,6	166,4	265,3
Стандартное отклонение	148,5	106,9	164,2
Медиана	157,0	134,0	213,0
IQR (межквартильный размах)	136,5	116,0	225,0
p	0,0008	0,012	0,0001

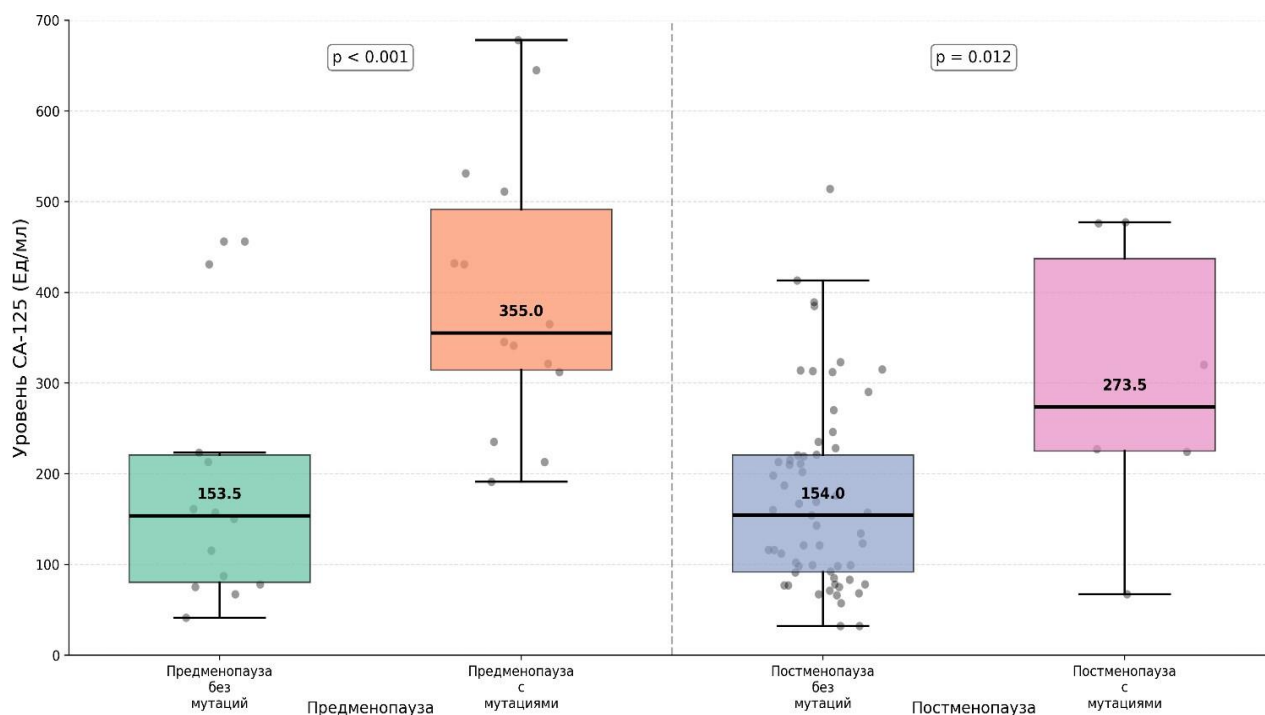


Рисунок 18 – Концентрация онкомаркера СА-125 в зависимости от менструальной функции у носительниц мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* и у пациенток без выявленных мутаций

В свою очередь концентрация онкомаркера Не4 определялась значительно реже и данные по нему отсутствуют/не определялись у большей половины пациенток (69/120, 57,5 %) несмотря на то, что этот тест является более специфичным. Среднее значение онкомаркера Не4 в исследованной выборке (51/120; 42,5 %) составило $118,5 \pm 69,62$ пмоль/л, медиана составила 103,0 пмоль/л, а межквартильный размах – 31,0 пмоль/л.

Показатели Не4 у пациенток в предменопаузе характеризовались высокой вариабельностью и составили $180,4 \pm 123,4$ пмоль/л и значительно превышали показатели пациенток в постменопаузе – $103,2 \pm 28,1$ пмоль/л ($p=0,006$). Анализ различий показателей онкомаркера Не4 в группах пациенток-носительниц мутаций и без выявленных мутаций представлен в таблице 22.

Уровни онкомаркера Не4 у пациенток-носительниц до начала лечения достоверно выше вне зависимости от менструальной функции, что так же, как и в случае с СА-125, подчеркивает необходимость проведения молекулярно-генетического тестирования пациенток при значительном повышении Не4 (выше

150 пмоль/мл). Кроме того, в группе пациенток, у которых мутации не были выявлены, наблюдается тенденция к снижению концентрации онкомаркера в постменопаузе, в то время как у носительниц мутаций уровни He4 в постменопаузе не снижаются значимо (рисунок 19).

Таблица 22 – Концентрация онкомаркера He4 в зависимости от менструальной функции у носительниц мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* и у пациенток без выявленных мутаций

Характеристики	Предменопауза	Постменопауза	Всего
<i>BRCA1+</i> , <i>BRCA2+</i> , <i>CHEK2+</i> РЯ			
Количество наблюдений	n1 = 6	n2 = 4	10
Среднее содержание (пмоль/мл)	173,2	149,0	163,5
Стандартное отклонение	38,6	48,6	44,4
Медиана	184,0	193,1	170,5
IQR (межквартильный размах)	70,5	60,5	67,5
<i>BRCA1-</i> , <i>BRCA2-</i> <i>CHEK2-</i> РЯ			
Количество наблюдений	n1 = 5	n2 = 36	41
Среднее содержание (пмоль/мл)	189,0	98,9	107,5
Стандартное отклонение	193,1	23,9	72,1
Медиана	118,0	97,5	98,0
IQR (межквартильный размах)	19,0	22,5	22,5
p	0,03	0,016	0,002

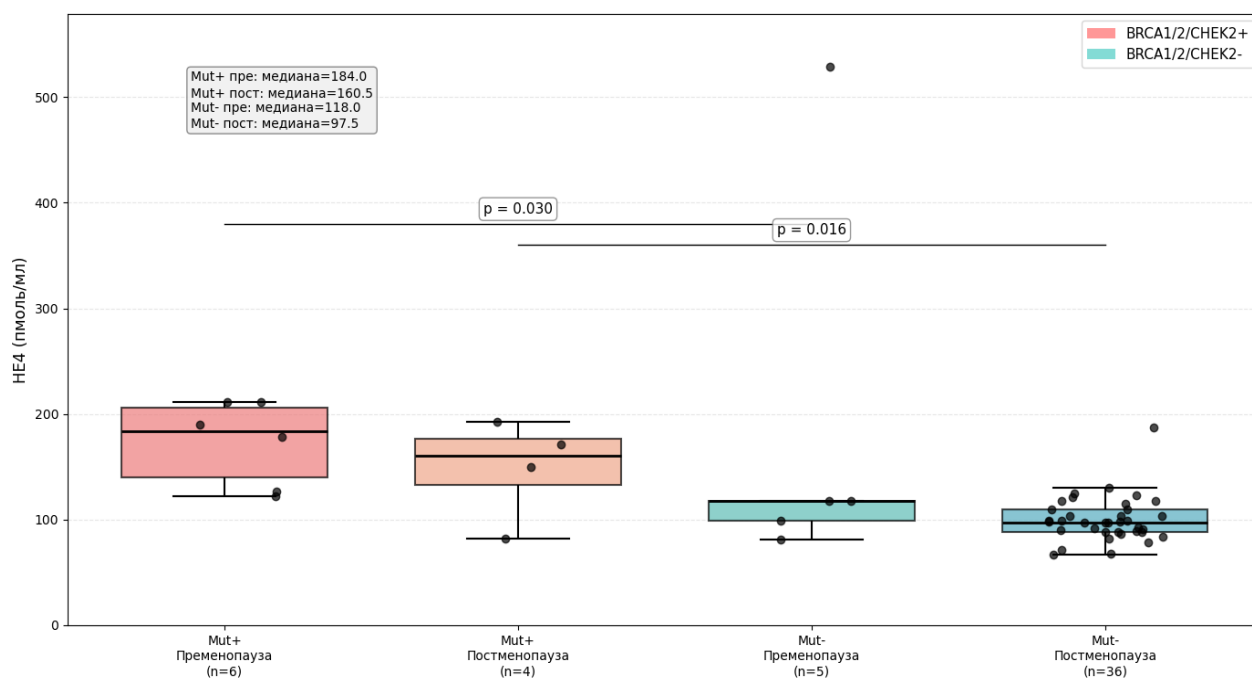


Рисунок 19 – Концентрация онкомаркера He4 в зависимости от менструальной функции у носительниц мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* и у пациенток без выявленных мутаций

Такие показатели свидетельствуют о необходимости учета концентраций биохимических онкомаркеров при направлении пациенток на МГИ. Таким образом, во многом клинико-морфологические характеристики РЯ у носительниц мутаций и в группе пациенток, у которых мутации в рамках данного исследования не были детектированы, сходны, однако к особенностям РЯ, ассоциированного с мутациями, можно отнести более ранний возраст манифестации, высокий риск развития первично-множественных опухолевых поражений, высокие уровни биохимических онкомаркеров СА-125 и He4 до начала лечения, установления диагноза на ранних стадиях (I-II) а также анамнестически – высокая частота встречаемости РМЖ у родственников I-II линии родства. К морфологическим признакам можно отнести преобладание серозных карцином и эндометриоидных карцином высокой степени злокачественности, которые характеризуются низкой степенью дифференцировки (G3) и более агрессивным течением опухолевого процесса. Кроме того, умеренная степень дифференцировки (G2) опухоли также статистически значимо ассоциирована с носительством мутаций.

5.2 Этнические различия клинико-морфологических характеристик рака яичников

В основной группе исследования 19 пациенток (15,8 %) принадлежали к крымскотатарской этнической группе, в то время как оставшаяся 101 участница (84,2 %) самоидентифицировали себя как славяне (русские, украинцы) (таблица 23).

Таблица 23 – Клинико-морфологические характеристики РЯ у крымских татар и славян

Показатели	Крымские татары	Славяне (русские, украинцы)	р	Всего
Число больных	n1 = 19	n2 = 101	–	120
Средний возраст	58,7 ± 9,5	56,8 ± 8,1	0,42	61,3 ± 9,2
Возраст манифестации заболевания				
До 50 лет	5 (26,3 %)	32 (31,6 %)	0,64	37 (30,8 %)
После 50 лет	14 (73,7 %)	69 (68,3 %)		83 (69,2 %)
Степень дифференцировки опухоли				
G1	2 (10,5 %)	17 (16,8 %)	0,51	19 (15,8 %)
G2	1 (5,3 %)	12 (11,9 %)	0,46	13 (10,8 %)
G3	16 (84,2 %)	72 (71,2 %)	0,26	88 (73,4 %)
Гистологический тип опухоли				
Серозная	17 (89,4 %)	95 (94,1 %)	0,48	112 (93,3 %)
Эндометриоидная	1 (5,3 %)	4 (3,9 %)	1,00	5 (4,2 %)
Муцинозная	–	2 (2,0 %)	–	2 (1,7 %)
Смешанная	1 (5,3 %)	–	–	1 (0,8 %)
Монолатеральный/билатеральный РЯ				
Монолатеральный	1 (5,3 %)	6 (5,9 %)	0,72	7 (5,8 %)
Билатеральный	18 (94,7 %)	95 (94,0 %)		113 (94,2 %)
Распределение по стадиям по FIGO				
I	2 (10,5 %)	16 (15,8 %)	0,40	18 (15 %)
II	3 (15,8 %)	6 (5,9 %)		9 (7,5 %)
III	12 (63,2 %)	71 (70,4 %)	0,56	83 (69,2 %)

Продолжение таблицы 23

IV	2 (10,5 %)	8 (7,9 %)		10 (8,3 %)
Семейный анамнез (ЗНО у родственников I-II линии родства)				
Присутствует	8 (42,1 %)	53 (52,4 %)	0,82	61 (50,8 %)
Отсутствует	11 (57,9 %)	54 (47,6 %)		59 (41,2 %)
Первично-множественные синхронные и метахронные ЗНО				
Да	1 (5,3 %)	8 (7,9 %)	0,99	10 (8,3 %)
Нет	18 (94,7 %)	92 (91,1 %)		110 (91,7 %)

Несмотря на то, что среди крымских татарок носительницы искомым мутаций не были выявлены, анализ и сравнение клинико-морфологических особенностей РЯ у пациенток разных этнических групп позволяет формировать группы риска и прогнозировать особенности течения заболевания.

Ретроспективный анализ охвата пациенток скрининговыми методами диагностики – определение концентрации биохимических онкомаркеров СА-125 и Не4 до начала лечения показал, что среди крымских татар данные об уровне СА-125 отсутствуют по 5 из 19 пациенток (26,3 %). Средняя концентрация онкомаркера СА-125 в исследованной крымскотатарской подгруппе составила $172,7 \pm 96,5$ Ед/л, медиана – 160,5 Ед/л, межквартильный размах – 103 Ед/л.

Данные о концентрации онкомаркера Не4 отсутствуют у 10 из 19 пациенток (52,6 %). У обследованных пациенток средняя концентрация Не4 составила $102,3 \pm 16,3$ пмоль/л; медиана – 99 пмоль/л, межквартильный размах – 31 пмоль/л. В целом уровни Не4 распределены более равномерно, выбросы не отмечаются.

В славянской группе данных о концентрации онкомаркера СА-125 нет в медицинской документации у 21 пациентки (20,7 %), в свою очередь обследованы до начала лечения 80 пациенток (79,3 %). Средняя концентрация онкомаркера СА-125 в исследованной славянской подгруппе составила $238,16 \pm 156,7$ Ед/л, медиана – 166,5 Ед/л, межквартильный размах – 214 Ед/л.

В данной подгруппе сведения об онкомаркере Не4 также встречались значительно реже. Так, данные о концентрации Не4 до начала среди славянских

пациенток отсутствуют в 59,4 % случаев (60/101). У обследованных пациенток средняя концентрация He4 составила $121,2 \pm 59,1$ пмоль/л; медиана – 99 пмоль/л, межквартильный размах – 62 пмоль/л. В славянской подгруппе концентрации онкомаркера He4 также распределены более равномерно по сравнению с СА-125, однако отмечается несколько выбросов (211, 211, 529 пмоль/л).

Анализ значимости различий между подгруппами по концентрации онкомаркера СА-125 показал пограничное значение ($p=0,05$, тест Манна-Уитни), что, вероятно связано с малым числом наблюдений в крымскотатарской выборке. Тем не менее, можно отметить тенденцию к наличию более высоких уровней онкомаркера у славянских пациенток. В свою очередь, различия в концентрации HE4 между татарскими и славянскими пациентками не являются статистически значимыми ($p=0,263$).

Таким образом, в рамках данного исследования статистически значимые различия клинико-морфологических (гистологический тип опухоли, степень злокачественности, семейный онкологический анамнез) и эпидемиологических характеристик РЯ (средний возраст и возраст дебюта заболевания) между подгруппой крымских татар и славян не были выявлены. Тем не менее, необходимо отметить тенденцию к большей доле низкодифференцированных опухолей высокой степени злокачественности (84,2 %), а также к более частой диагностике заболевания на поздних стадиях (73,7 %) в выборке крымских татар.

В целом неоднородность распределения по этническому признаку и гетерогенность молекулярно-генетических основ заболевания может свидетельствовать о более низкой частоте заболеваемости РЯ среди крымских татар, а также о необходимости продолжения исследований в данном направлении с расширением выборки и используемых методик молекулярно-генетического тестирования. Вероятно, использование упрощенных методов МГИ для данной этнической группы не в полной мере информативно, в связи с чем необходимо использовать более точные методы (NGS).

5.3 Клинико-морфологические особенности рака яичников при спорадических и герминальных мутациях: сравнительный патофизиологический анализ

Всего в рамках исследования было выявлено 5 соматических мутаций (5/22; 22,7 %), при этом 3 соматические мутации выявлены в гене *BRCA1* (*BRCA1c.5266dupC*), и 2 в гене *BRCA2* (*BRCA2c.6174delT*). Таким образом, доля спорадических случаев BRCA-ассоциированного РЯ составила 4,2 %, в то время как доля НРЯ составила 13,3 % (таблица 24).

Несмотря на то, что статически значимые отличия по большей части характеристик не были выявлены, установленные клинически релевантные тенденции указывают на важные различия в биологии опухолей разного типа. Так, опухоли, ассоциированные с герминальными мутациями, обладают типичными характеристиками BRCA-ассоциированного РЯ: билатеральное поражение, преобладание серозных низкодифференцированных опухолей, более ранний возраст манифестации заболевания.

Таблица 24 – Характеристика спорадического и НРЯ

Показатели	Спорадический	Наследственный	p	Всего
Число больных	n1 = 5	n2 = 16	–	21
Средний возраст	52,4 ± 8,1	48,1 ± 10,1	0,37	52,8 ± 9,4
Возраст манифестации заболевания				
До 50 лет	2 (40,0 %)	11 (68,8 %)	0,04	13 (61,9 %)
После 50 лет	3 (60,0 %)	5 (31,2 %)		8 (38,1 %)
Степень дифференцировки опухоли				
G1	–	1 (6,3 %)	–	1 (4,8 %)
G2	–	5 (31,2 %)	–	5 (23,8 %)
G3	5 (100 %)	10 (62,5 %)	0,14	15 (71,4 %)
Гистологический тип опухоли				
Серозная	5 (100 %)	13 (81,3 %)	0,56	18 (85,7 %)
Эндомиоидная	–	3 (18,7 %)	–	3 (14,3 %)
Муцинозная	–	–	–	–

Продолжение таблицы 24

Смешанная	–	–	–	–
Монолатеральный/билатеральный РЯ				
Монолатеральный	–	2 (12,5 %)	1,0	2 (9,5 %)
Билатеральный	5 (100 %)	14 (87,5 %)		19 (90,5 %)
Распределение по стадиям по FIGO				
I	1 (20 %)	6 (37,5 %)	0,37	7 (33,3 %)
II	–	2 (12,5 %)		2 (9,5 %)
III	3 (60 %)	8 (50,0 %)	0,37	11 (52,4 %)
IV	1 (20 %)	–		1 (4,8 %)
Семейный анамнез (ЗНО у родственников I-II линии родства)				
Присутствует	4 (80 %)	12 (75 %)	1,0	16 (76,2 %)
Отсутствует	1 (20 %)	4 (25 %)		5 (23,8 %)
Первично-множественные синхронные и метакронные ЗНО				
Да	–	5 (31,2 %)	0,3	5 (23,8 %)
Нет	5 (100 %)	11 (68,8 %)		16 (76,2 %)

Важно отметить, что теми же характеристиками обладает единственный случай *CHEK2*-ассоциированного НРЯ, что можно объяснить функциональной синергией белков BRCA и CHEK2 в процессе гомологичной рекомбинации ДЦР ДНК.

Неожиданной находкой является преобладание пациентов с отягощенным семейным анамнезом среди пациентов со спорадическими мутациями (80%). Такую особенность можно объяснить фактом вероятной гиподиагностики: нельзя исключить сочетанное действие спорадических и герминальных мутаций, которые не были выявлены в рамках данного исследования.

Тем не менее, полученные данные характеризуются высокой вариабельностью, что подчеркивает важность персонализированного подхода к диагностике РЯ, а также популяризации молекулярно-генетических методов исследования.

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заболеваемость эпителиальным РЯ из года в год остается стабильно высокой. Согласно прогнозам Международного агентства по изучению рака, в динамике заболеваемости РЯ с 2022 по 2030 год ожидается прирост, который колеблется от 4,7 % (Европа) до 29,4 % (Африка). Ожидаемый прирост в РФ составляет 1,3 %. Кроме того, больше половины случаев РЯ завершаются летальным исходом, несмотря на постоянно совершенствующиеся подходы к терапии онкологических патологий. Так, РЯ занимает пятое место в структуре смертности от онкологических заболеваний у женщин, унося больше жизней, чем любой другой вид рака женской репродуктивной системы [132].

По своей сути диагноз РЯ объединяет включает различные виды неопластических поражений яичников, которые обобщенно можно разделить на две категории: I тип (менее злокачественные): высокодифференцированные и относительно генетически стабильные серозные, муцинозные, эндометриоидные, светлоклеточные и переходноклеточные карциномы, скорость пролиферации которых, как правило, не высокая и ограниченная яичником; и опухоли II типа (наиболее злокачественные): низкодифференцированная серозная карцинома и карциносаркомы, которые являются клинически наиболее агрессивные и демонстрируют высокую генетическую нестабильность [133, 134]. Таким образом, прогноз заболевания и эффективность проводимого лечения в первую очередь зависят от типа опухоли яичников, который определяется молекулярно-генетическими особенностями канцерогенеза.

Наиболее часто встречающимся морфологическим типом РЯ является серозная карцинома высокой степени злокачественности. Несмотря на достаточно агрессивное биологическое поведение данной опухоли, в большинстве случаев она диагностируется на достаточно поздних стадиях (III-IV). Клинически РЯ протекает преимущественно бессимптомно на ранних стадиях, а редкие возникающие симптомы достаточно неспецифичны (астенический синдром, боли на стороне пораженного яичника).

В контексте оказания помощи пациентам с РЯ на первый план выходит ранняя диагностика, превентивные мероприятия, а также персонализированный подход в лечении.

В связи с этим изучение молекулярно-генетических механизмов канцерогенеза РЯ является ключевым фактором в усовершенствовании качества оказания помощи данной категории больных. Самым значимым фактором риска рака яичников является наличие семейного анамнеза РМЖ и РЯ, и до 25 % всех случаев РЯ являются наследственной формой, что соответствует результатам нашего исследования [135]. При этом, по различным оценкам, около 50 % серьезных карцином High Grade характеризуются дефектом в системе генов гомологичной рекомбинации вне зависимости от природы заболевания. В 15 % случаев РЯ ассоциирован с герминальными мутациями генов *BRCA1* и *BRCA2*, в 6 % случаев – с соматическими мутациями тех же генов. В патогенезе 20 % случаев ведущую роль играют мутации и/или нарушение эпигенетической регуляции других генов, участвующих в гомологичной рекомбинации, например, *TP53*, *ATM*, *RAD51/54*, *CHEK1*, *CHEK2*, *NBS1*, *PALB2*, *PTEN* [136].

Безусловно, инактивация и/или снижение функции генов *BRCA1* и *BRCA2* в гомологичной рекомбинации является наиболее частым и критичным нарушением, однако патология других вышеперечисленных генов также, в конечном итоге, ведет к нарушению гомологичной рекомбинации и накоплению ошибок репарации. В связи с этим, данные гены в равной степени определяют молекулярно-генетический профиль опухоли, который характеризуется «BRCA-ность», и должны быть учтены при планировании лечения и проведении молекулярно-генетического консультирования [137].

Многие медицинские общества, клинические рекомендации указывают необходимость обязательного проведения МГИ всем женщинам с диагнозом РЯ, что особенно важно в контексте гетерогенности и неполной изученности патогенеза. Однако только около 30 % женщин проходят какое-либо генетическое тестирование [138]. По РФ такая статистика отсутствует вовсе, что свидетельствует системной проблеме: как пациенты не в полной мере

осознают значимость генетического тестирования, так и врачи-онкологи часто по-прежнему недостаточно понимают и/или не имеют ресурсов и оптимальных стратегий для того, как наилучшим образом включить молекулярно-генетическое консультирование в свою практику. В данном контексте к наиболее вероятным сложностям помимо низкой комплаентности пациентов и отсутствия четкой и простой маршрутизации, необходимо отметить также и недооцененную сложность и вариабельность патогенетических механизмов рака яичников.

Эта тенденция была отражена в результатах проведенного исследования. Так, анализ первичной медицинской документации пациенток, составивших группу исследования, показал, что менее половины из них (40,8 %) прошли какой-либо вариант МГИ в рамках обследования при установлении диагноза РЯ и/или в процессе лечения. В большинстве случаев исследование было проведено на гистологических препаратах опухоли, гораздо реже использовались образцы крови пациенток, еще реже тестирование проводилось на всех видах материала. При этом у 12,5 % исследованных пациенток были детектированы мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Эти данные свидетельствуют о выраженной недообследованности пациенток на клиническом этапе.

Эта негативная тенденция подчеркивается другой: анализ стратификации РЯ по стадиям продемонстрировал негативный результат ввиду того, что у большинства пациенток (77,5 %) диагноз был установлен на поздних стадиях (III-IV).

Вторая проблема МГИ связана с вариабельностью распространенности молекулярно-генетических вариантов генов гомологичной рекомбинации даже в пределах популяции одной страны. Наиболее распространенными в российской популяции считаются мутации *BRCA1* 5382InsC (5266dupC), 4153DelA(4035delA), 185delAG(68_69del), 3819delGTAAA(3700_3104del), 3875delGTCT (3755_3758del), 300 T>G (181T>G, Cys61Gly), 2080delA (1961del) и *BRCA2* 6174DelT. Отмечается особое значение мутации *BRCA1* 5382InsC, которая считается мутацией основателя и характеризуется наибольшей встречаемостью [16]. Именно эти мутации включены в молекулярно-генетическую панель диагностики, которую

применяют при проведении МГИ пациенткам с РЯ и РМЖ. В большинстве случаев этот спектр является актуальным для славянского населения разных регионов РФ, в то же время все больше исследований демонстрируют важность определения региональных молекулярно-генетических особенностей заболеваний [13, 17, 18].

В нашем исследовании среди пациенток с диагнозом РЯ 17,5 % (21/120) оказались носительницами искомым патогенных вариантов генов. При этом у 13,3 % пациенток выявленные мутации носили герминальный характер, у 4,2 % – соматический. Носительницы мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* составили 9,6 % исследованной группы и принадлежали исключительно к славянской подгруппе. С одной стороны, такие данные подчеркивают неоспоримое значение инактивации данных генов в молекулярном патогенезе РЯ, с другой стороны – процент BRCA-ассоциированного РЯ в исследованной выборке крымских пациенток значительно ниже, чем аналогичный показатель по России в целом [8, 131].

В исследуемой выборке доля носительниц герминальных мутаций в гене *BRCA1* составила 6,8 % (14/220). Превалирующим молекулярно-генетическим вариантом является мутация *BRCA1* с.5266dupC, носительство которой выявлено у 5,8 % пациенток основной группы, а ее доля среди прочих мутаций составила 41,1 %. Данная мутация выявляется наиболее часто идентифицируемой в российской популяции, как для пациенток с РЯ, так и с РМЖ, что подтвердилось и в нашем исследовании [8, 16, 139, 140]. При этом три мутации были выявлены исключительно в опухолевом материале, являясь соматическими, что подчеркивает вклад данного молекулярно-генетического варианта в патогенез как спорадических, так и наследственных форм РЯ. Кроме того, интересной находкой является выявление носительницы данной мутации среди женщин, составивших контрольную группу (1 %). Таким образом, суммарная частота выявления мутации *BRCA1* с.5266dupC среди исследованной когорты составила 5 %.

Также при тестировании образцов крови в гене *BRCA1* были выявлены три других патогенных варианта – с.4035delA (4/120, 3,3 %), с.181T>G (2/120, 1,7 %), с.68_69del (1/17, 0,8 %). Согласно Международной базе данных Breast Cancer Information Core, генетический вариант с.68_69del/c.185delAG является

наиболее распространенным в популяции в целом. Тем не менее, по результатам данного исследования его частота не достигла даже 1 %. В свою очередь, мутации с.4035delA и с.181T>G являются относительно распространенными в РФ и включены в стандартную российскую диагностическую панель [8, 16]. Кроме того, мутация с.4035delA распространена на территории восточноевропейских стран, например в Польше и Республике Беларусь, и она же являлась второй по частоте выявляемой мутацией в гене *BRCA1* в данном исследовании (23,5%) [141].

Среди женщин, принявших участие в исследовании, носительницы других мутаций *BRCA1* – с.2080delA(1961del), с.3819delGTAAA (3700_3104del), с.3875delGTCT(3755_3758del), включенных в диагностическую панель, выявлены не были. Такие результаты свидетельствуют в пользу возможного исключения данных молекулярно-генетических вариантов при проведении упрощенного варианта МГИ у крымских пациенток с РЯ для сокращения времени проведения исследования и уменьшения затрат (рисунок 20 А и Б).

В нашем исследовании, сравнительный анализ контрольной и основной группы показал, что носительство герминальной мутации в гене *BRCA1* у женщины славянского этноса достоверно повышает риск развития РЯ более чем в 10 раз, что согласуется с данными мировых и отечественных исследований [8, 16, 139, 140].

Таким образом, ведущим пусковым механизмом патогенеза РЯ для данной категории женщин является инактивация гена *BRCA1*, которая приводит к развитию генетической нестабильности клетки.

В свою очередь мутации в гене *BRCA2* выявлялись значительно реже, чем в гене *BRCA1*. Доля носительниц мутаций в гене *BRCA2* в исследованной выборке пациентов составила 1,4 % (3/220), а в основной группе – 2,5% (3/120). Патология гена *BRCA2* в патогенезе РЯ у крымских пациентов встречалась в 3 раза реже, чем гена *BRCA1*, что соответствует данным других исследований, включая мультицентровые [8, 142]. При тестировании образцов крови здоровых доноров искомые мутации в гене *BRCA2* не были выявлены.

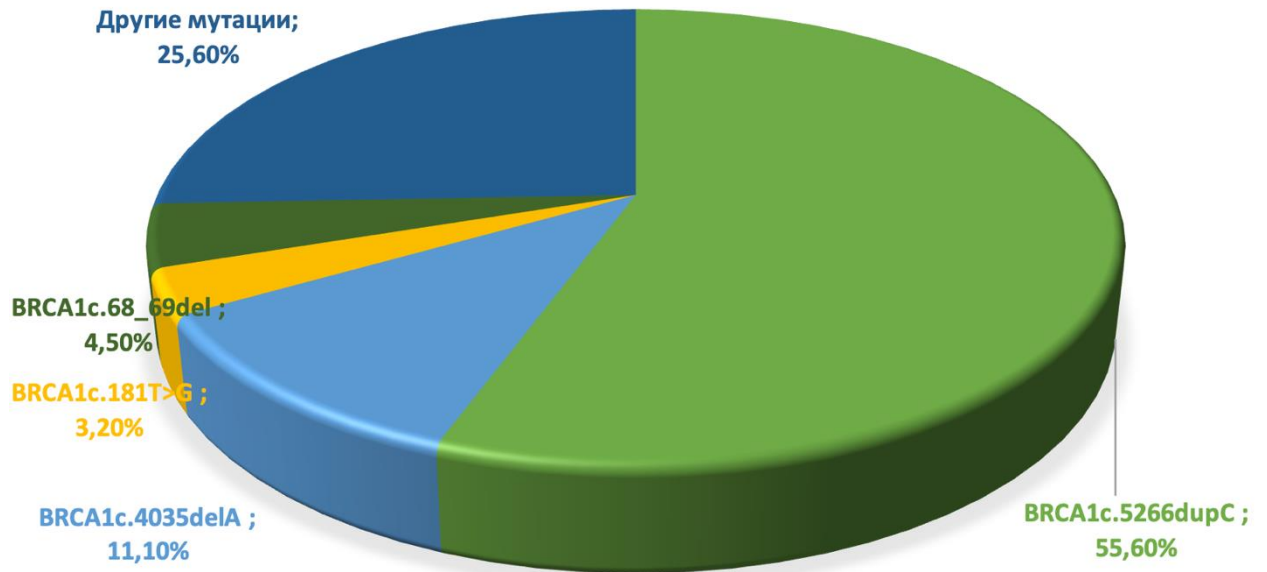
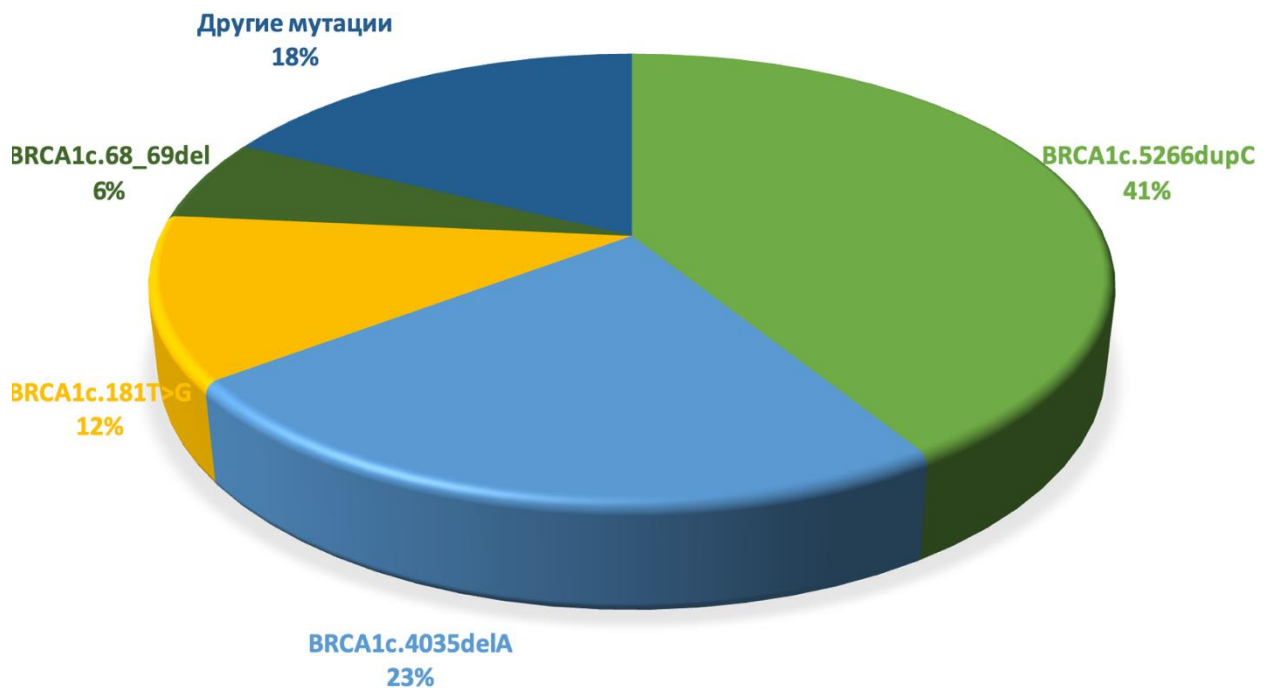


Рисунок 20 А) Спектр и частота мутаций, входящих в панель «горячих точек», характерных для российской популяции пациенток с раком яичников [16]



Б) Спектр и частота мутаций, входящих в панель «горячих точек», выявленных у крымских пациенток с РЯ

Две идентифицированные мутации являлись соматическими – с.6174delT (2/3, 66,7 %); одна мутация с.3749dupA (1/3, 33,3 %) выявлена при тестировании образцов крови. Важно отметить, что выявленная герминальная мутация не включена в наиболее используемую панель «8 горячих точек». На данном этапе статистически значимой ассоциации между наличием герминальной мутации *BRCA2*с.3749dupA и патогенезом РЯ не выявлено, однако это можно объяснить небольшим количеством наблюдений. С учетом высокой пенетрантности данного молекулярно-генетического варианта, отрицать его вклад в патогенез РЯ не представляется возможным. В то же время, использование праймеров для детекции и включение данного молекулярно-генетического варианта в регионарную диагностическую позволит увеличить эффективность проведения МГИ в Крыму.

В нашем исследовании также в шести случаях (2,7 %; 6/220) было установлено носительство полиморфизма *CHEK2*с.470T>C при тестировании крови исследованных женщин. Две носительницы мутаций детектированы в группе пациенток с диагнозом РЯ (1,6 %), при этом в одном случае носительство герминального полиморфизма *CHEK2*с.470T>C и мутации *BRCA2*с.6174delT было сочетано. Среди здоровых доноров данный полиморфизм встречался чаще (4 %; 4/100), при этом одна носительница является крымской татаркой. По результатам данного исследования для молекулярно-генетического варианта *CHEK2*с.470T>C не характерно увеличение риска развития РЯ.

Такие данные также коррелируют с общими тенденциями, поскольку до сегодняшнего дня роль изменений гена *CHEK2* в патогене РЯ остается весьма спорной. Ряд проведенных ранее исследований выявил, что у 1,2–10,5 % носительниц мутации, имевших отягощенный семейный онкологический анамнез по РМЖ, развивался РЯ [57, 100]. Однако в других работах встречались противоположные данные: частота мутаций оказалась существенно ниже, и их авторы не обнаружили значимой связи с риском РЯ, что также согласовывается с результатами: полученными в ходе нашего исследования [141, 143].

В контексте российской популяции наиболее часто говорят о трех мутациях

в гене *CHEK2* – с.1100delC, IVS2+1G>A, с.470T>C, праймеры для детекции которых были использованы и в данном исследовании. Первые два варианта среди исследованной выборки женщин идентифицированы не были несмотря на то, что именно эти мутации наиболее часто ассоциируют с увеличением риска развития РЯ, а в случае с РМЖ являются предикторами неблагоприятного прогноза. В свою очередь, полиморфизм *CHEK2*с.470T>C в большинстве исследований чаще выявлялся в контрольной группе, что и было продемонстрировано по результатам генотипирования основной и контрольной групп в нашем исследовании [144].

Таким образом, на данном этапе сделать вывод о значим вкладе полиморфизма *CHEK2*с.470T>C в инициацию патогенеза РЯ не представляется возможным, однако необходимо продолжать исследования в данном направлении с вовлечением большего количества пациентов. Тем не менее, включение полиморфизма *CHEK2*с.470T>C в перечень обязательных к определению мутаций для крымских пациенток было бы целесообразно при планировании лечения. Так, детекция данного молекулярно-генетического варианта может служить потенциальным основанием для назначения таргетной поддерживающей терапии PARP-ингибиторами, наравне с носительством мутаций в генах *BRCA1/2* в связи с их общим вкладом в процесс репарации двухцепочечных разрывов ДНК, что может значительно повлиять на прогноз и выживаемость пациенток.

Среди исследованных женщин носительницы мутаций в гене *PALB2* не были выявлены. Вероятно, вклад искомой мутации в патогенез РЯ в регионе минимален, однако исследования также необходимо продолжать. Данные по роли гена *PALB2* в патогенезе РЯ переменны. Описаны результаты, согласно которым молекулярно-генетические изменения в гене *PALB2* у пациенток с РЯ и здоровых доноров встречались с равнозначной частотой [145]. В других исследованиях носительницы патологических вариантов гена *PALB2* среди пациенток с диагнозом РЯ выявлялись чаще [146].

В совокупности проведенный анализ демонстрирует общее соответствие выявленных среди крымских пациенток закономерностей общероссийским тенденциям, характерным для РЯ, однако различия в частоте встречаемости в

отдельных случаях также обращают на себя внимание (рисунок 21).

Частота встречаемости founder-мутации *BRCA1*c.5266dupC в целом по Российской Федерации (10,4 %) превышает аналогичный показатель, зарегистрированный в Крымском регионе (5,8 %). Несмотря на отсутствие статистически значимой разницы в Крыму и России ($p = 0,437$), отношение шансов показывает, что встретить носительницу founder-мутации в Крыму на 53 % ниже, чем по России. В противоположность этой тенденции, более редкий вариант *BRCA1*c.4035delA был обнаружен в исследуемой крымской выборке значительно чаще ($p = 0,0046$), при этом отношение шансов показывает вероятность встретить данную мутацию в Крыму в 16 раз выше, чем в российской популяции, подтверждая региональные особенности распределения генетических вариантов и инициирующих факторов патогенеза.

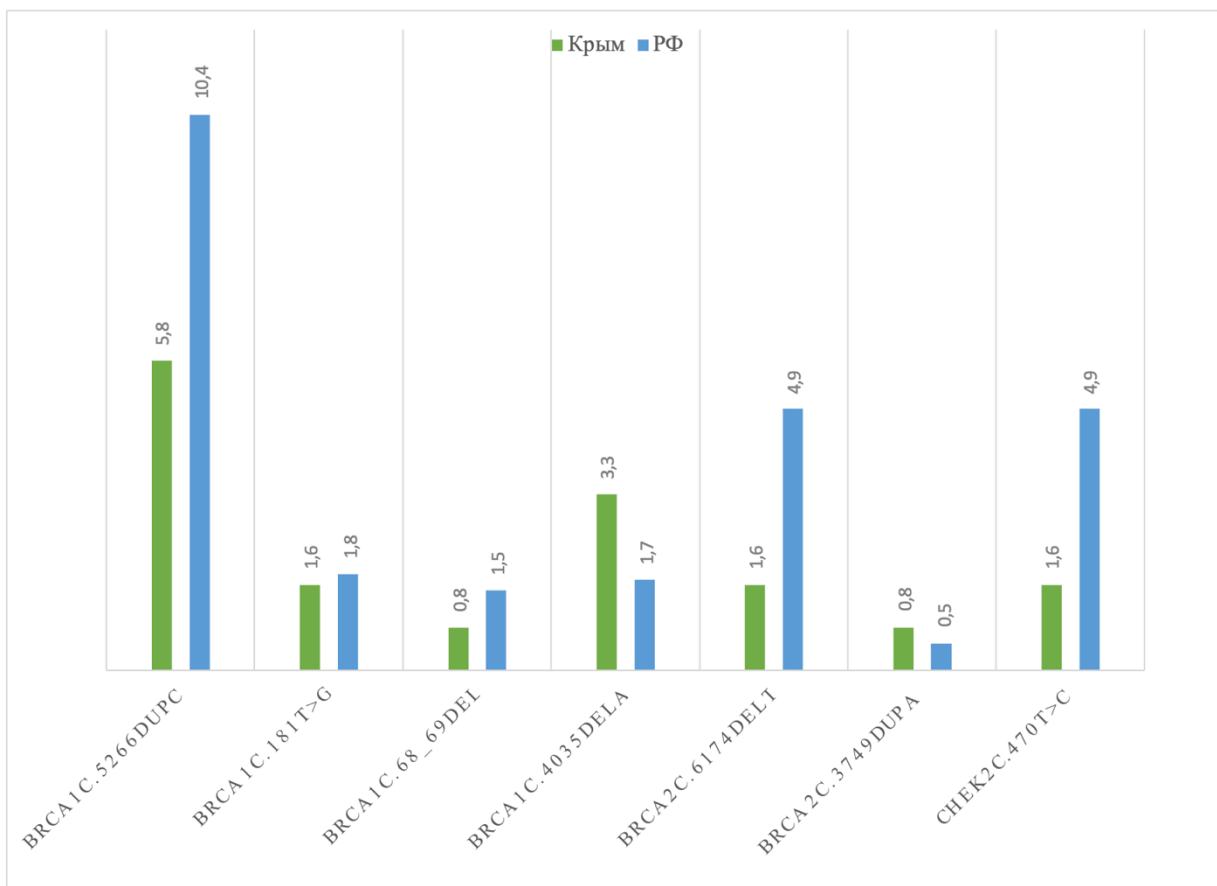


Рисунок 21 – Сравнение частоты встречаемости выявленных мутаций в генах *BRCA1,2* и *CHEK2* у крымских пациенток с РЯ, принадлежащих к славянской этнической группе в сравнении с данными, полученными в других исследованиях по России [8]

Также важно отметить идентификацию мутаций в генах *BRCA2* и *CHEK2*, которые не включены в панель «горячих точек».

Интересной находкой является дивергенция в патогенетических механизмах РЯ и РМЖ у крымских пациенток. Так, результаты исследования Олексенко В. В., Алиева К. А. и соавторов показывают минимальный вклад мутации *BRCA1*c.4035delA в патогенез РМЖ в регионе: она не была выявлена ни одной пациентки с РМЖ, вошедшей в исследование. В то же время вклад мутаций *BRCA1*c.5266dupC и *BRCA1*c.181T>G в патогенез как РЯ, так и РМЖ сходен [147]. Нерешенным остается вопрос о молекулярно-генетических механизмах инициации патогенеза РЯ среди крымских татарок, носительницы искомым мутаций среди которых выявлены не были. Безусловно, это может быть связано с меньшей численностью крымскотатарского населения и меньшим количеством наблюдений. Однако в целом, в российской популяции характерно наличие значительных отличий молекулярно-генетического профиля у коренного населения регионов по сравнению со славянской частью населения. Так, среди буряток, тувинков и алтаек также не были обнаружены носительницы мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* [17, 19, 20]. В выборке татар около 1,3 % случаев РМЖ, РЯ, рака предстательной железы ассоциированы с мутацией *BRCA1*c.5161C>T, которая не входит в панель «горячих точек» [6].

Такая же тенденция прослеживается и по результатам данного исследования. Решением сложившейся ситуации будет рекомендация и направление крымских татарок для проведения более сложных методов МГИ (NGS) и/или поиск возможных эпигенетических изменений при отрицательном результате МГИ на первом этапе. При этом, несмотря на отмечающуюся тенденцию к наличию отличий молекулярно-генетической природы заболевания у пациенток разных этнических групп, клинико-морфологические и биологические характеристики опухолей в этих группах не обладали существенными различиями.

В ходе нашего исследования не было обнаружено статистически значимых различий в среднем возрасте и возрасте диагностирования заболевания, гистологическим подтипом, степенью злокачественности опухолей, наличием

отягощенной наследственности между подгруппами крымских татар и славян. Патогенетически это можно объяснить дивергенцией в молекулярно-генетических механизмах, инициирующих патогенез, но общностью финальных звеньев патогенеза. Необходимо также отметить неравномерное распределение по заболеваемости между подгруппами в целом свидетельствует о большей заболеваемости РЯ среди славянской части населения Республики Крым.

Интересным является факт более частого диагностирования РЯ на поздних стадиях (III-IV) у крымских татар (73,7 %), а также более высокими уровнями онкомаркера СА-125 до начала лечения среди обследованной выборки славян.

В свою очередь, анализ особенностей опухолей, ассоциированных с мутациями генов гомологичной рекомбинации, и опухолей с отрицательным результатом генотипирования, показал существенные отличия.

Сравнение возрастных характеристик исследуемых групп выявило, что средний возраст пациенток-носительниц мутаций оказался на десять лет ниже, чем в группе без мутаций ($p = 0,0001$). При этом для *BRCA1*-, *BRCA2*- и *CHEK2*-ассоциированного РЯ был также характерен более ранний возраст манифестации заболевания: в 61,9% случаев диагноз устанавливался до 50 лет, тогда как в группе без мутаций этот показатель составил лишь 24,2 % ($p = 0,0006$). Наряду с преобладанием ранней манифестации, пик заболеваемости в группе пациенток с мутациями приходится на более молодой возраст по сравнению с группой пациенток без мутаций (40-49 лет, 47,6 % случаев и 50-69 лет, 67,6 % случаев соответственно). Выявленные тенденции согласуются с известными данными о более ранней манифестации рака у носительниц герминальных мутаций.

Кроме того, диагноз РЯ в группе пациенток с выявленными мутациями чаще диагностировали на ранних стадиях (I-II по FIGO) по сравнению с группой без выявленных мутаций (42,8 % и 18,2 % соответственно; $p = 0,009$). Это интересный феномен, так как в целом для РЯ характерно диагностирование на поздних стадиях, что было продемонстрировано по результатам других исследований [129]. Такие результаты данного исследования можно объяснить биологическими особенностями опухоли (более агрессивное течение, раннее появление симптомов)

и/или более активным скринингом, включая регулярные профилактические и профессиональные осмотры, в данной группе в связи с более молодым, трудоспособным населением, составившим данную группу.

Анализ морфологии опухолей показал, что в обеих группах преобладали серозные карциномы (93,3 %, 112/120), что также является характерным для опухолей яичников в целом.

Тем не менее, в группе носительниц мутаций, зарегистрировано три случая эндометриоидной карциномы (14,3 %), при этом все были ассоциированы с мутациями в гене *BRCA1*. Носительство мутаций статистически значимо ассоциировано с повышенной частотой эндометриоидного варианта ($p = 0,02$; OR = 8,1; 95% ДИ: 1,2–53,1). Наиболее редкими гистологическими типами оказались муцинозные (1,7 %) и смешанные карциномы (0,8 %), которые не встречались среди носительниц мутаций.

В нашем исследовании преобладающим гистологическим вариантом являлись опухоли низкой степени дифференцировки (степень злокачественности G3 High-Grade) – 73,4 % ($p = 0,82$), что также отражается в результатах других исследований [45].

Билатеральное поражение яичников встречалось с одинаковой частотой в обеих группах (общая выборка – 94,2 %; носительницы мутаций – 90,5 %; группа без мутаций – 94,9 %; $p = 0,33$). Эти данные не подтверждают значимой связи между двусторонним поражением и наследственной/спорадической формой РЯ, в отличие от других ЗНО (например, РМЖ), где билатеральность считается маркером наследственной природы. Кроме того, статистически подтверждено влияние мутаций на риск сочетанных опухолевых поражений ($p = 0,013$). Все случаи первично-множественных опухолей были ассоциированы с герминальными мутациями *BRCA1* и представлены синхронным/метахронным сочетанием РЯ + РМЖ или РЯ + рак тела матки, что также согласуется с данным литературы [45, 148].

Интересным результатом являются более высокие уровни онкомаркеров СА-125 и Не4 при сравнении групп пациенток в пред- и постменопаузе с

верифицированными мутациями и без них, так как данные по ассоциации наличия мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* являются спорными, показывая корреляцию мутаций с более высокими уровнями онкомаркеров у носительниц мутаций в одних исследованиях и ее отсутствие в других [33, 148, 149, 150].

Анализ показателей онкомаркера СА-125 в подгруппе пациенток с выявленными мутациями и без них показал статистически значимые различия как между общими выборками, так и в выборках, разделенных в соответствии с менструальной функцией. При этом различия между носительницами мутаций в пременопаузальном и постменопаузальном периоде не значимы ($p = 0,363$). Такие показатели свидетельствуют о необходимости обязательного проведения молекулярно-генетических исследований в случае обнаружения выраженного повышения концентрации СА-125 в крови (более 250 Ед/мл) вне зависимости от менструальной функции. Уровни онкомаркера Не4 у пациенток-носительниц до начала лечения достоверно выше вне зависимости от менструальной функции, что так же, как и в случае с СА-125, подчеркивает необходимость проведения молекулярно-генетического тестирования пациенток при значительном повышении Не4 (выше 150 пмоль/мл).

Анализ особенностей опухолей, ассоциированных с мутациями в разных генах, подтвердил наличие явления «BRCA-итности» – схожее биологическое поведение опухолей, ассоциированных с мутациями в системе генов гомологичной рекомбинации, так как статистически значимых различий по анализируемым параметрам (особенности распределения по стадиям, гистологическому типу опухоли и степени злокачественности) в настоящее время не выявлено.

Безусловно, необходимо учитывать погрешность, связанную с преобладанием *BRCA1*-ассоциированных случаев РЯ и ограниченное количество наблюдений среди пациенток с мутациями в других генах. Клинически значимой особенностью является более поздний возраст дебюта РЯ у носительниц патогенных вариантов генов *BRCA2* и *CHEK2* по сравнению носительницами мутаций в гене *BRCA1*: у большинства пациенток с мутациями в *BRCA2*, *CHEK2* и двойных мутациях (*BRCA2+CHEK2*) заболевание развилось после 50 лет. Кроме

того, все случаи первично-множественных злокачественных новообразований были ассоциированы исключительно с мутациями в гене *BRCA1*. Тем не менее, полученные данные позволяют рассмотреть наличие мутации в гене *CHEK2* как потенциальное показание к назначению таргетной терапии PARP-ингибиторов, наравне с мутациями *BRCA1*, *BRCA2* [124, 151, 152, 154].

Механизм действия PARP-ингибиторов в случае наличия дефектного варианта генов *BRCA1*, *BRCA2* известны. Так, в клетках с дефицитом BRCA, при невозможности восстановления двуцепочечных разрывов ДНК через гомологичную рекомбинацию, активируются альтернативные пути репарации, позволяющие клетке избежать апоптоза. Среди них ключевую роль играет PARP-зависимый механизм [124].

Однако в этом случае восстановление поврежденных цепей ДНК происходит изолированно, без согласованности между цепями, что делает процесс неточным и мутагенным. Ингибирование PARP в BRCA-дефицитных клетках приводит к накоплению нерепарируемых повреждений, что вызывает их неизбежную гибель и блокирует дальнейшее размножение мутировавших клеток. Таким образом, целенаправленное подавление PARP в условиях BRCA-дефицита создаёт синтетическую летальность, обеспечивая селективную элиминацию опухолевых клеток [124, 155].

Наиболее распространенным препаратом из группы ингибиторов PARP в современной клинической практике остается олапариб. Клинические исследования продемонстрировали его эффективность в 63 % случаев при BRCA-ассоциированном раке яичников [125]. Тем не менее, эффективность применения PARP-ингибиторов в случае носительства мутаций в других генах системы гомологичной репарации двуцепочечных разрывов ДНК не изучена, преимущественно из-за малого числа наблюдений. Вероятно, необходимо рассмотреть возможность назначения данной группы при наличии мутаций в других генах HRR off-label при исчерпании всех возможных линий ПХТ и чувствительности к платиносодержащим химиопрепаратам [156].

Изучение вклада ненаследственных факторов риска в патогенез РЯ

дополнило общий контекст понимания патогенеза РЯ среди исследованных пациенток. В ходе анкетирования пациенток и последующей обработки информации все выявленные факторы риска были классифицированы на две группы: модифицируемые (применение заместительной гормональной терапии в постменопаузе, отсутствие беременностей и родов в анамнезе, наличие синдрома поликистозных яичников, избыточная масса тела, табакокурение) и немодифицируемые (раннее начало менструаций, абсолютное бесплодие). Для модифицируемых факторов, таких как ожирение, курение и прием ЗГТ, также учитывалось продолжительность их влияния на организм.

Результаты, полученные в ходе нашего исследования, демонстрируют преобладающую роль модифицируемых факторов риска в когорте пациенток с РЯ. Согласно данным анкетирования, хотя бы один фактор риска был зафиксирован у 45 % пациенток. При этом абсолютное большинство выявленных факторов (более 90 %) относились к категории потенциально модифицируемых, что соответствует данным литературы, подчеркивающей значимость поведенческих и метаболических аспектов в патогенезе РЯ.

Наиболее распространённым фактором оказалось курение. Так, в исследовании, проведенном Ко, Kim и соавторами в 2018 году, отмечается вклад курения в патогенез муцинозных форм РЯ, однако в нашем исследовании корреляции между гистологическим типом РЯ и курением не было выявлено [36]. Вторым по распространённости фактором риска в нашем исследовании являлось ожирение, наличие которого характеризовалась наличием тенденции к повышенному риску. Такие данные согласуются с результатами исследования, проведенного Hirasawa и соавторами в 2017 году, согласно сведениям которого наличие ожирения III степени увеличивает риск развития РЯ до 50 % [157, 158].

Важно, что у значительной части пациенток (16,7 %) наблюдалось сочетание двух и более факторов, причем наиболее частой и статистически значимой комбинацией было одновременное наличие курения и ожирения.

Полученные данные подчеркивают необходимость комплексного изучения всех аспектов патогенеза рака яичников, особенно роли сочетанного воздействия

факторов. Выявленный синергизм курения и ожирения, вероятный патогенез которого включает потенцирование окислительного стресса, хронического воспаления и дисбаланса эстрогенов, указывает на важность интегрального подхода к оценке риска. Это согласуется с современной научной парадигмой, рассматривающей онкогинекологические заболевания как результат сложного взаимодействия средовых, метаболических и гормональных факторов.

Среди пациенток с выявленными по результатам генотипирования мутациями ведущим модифицируемым фактором риска оказалось курение, которое отмечалось у 28,6 % носительниц (6 из 21). Ожирение было выявлено у 14,3 % (3/21), а применение заместительной гормональной терапии в менопаузе – у 9,5 % (2/21) участниц исследования.

Проведенный анализ подтвердил существенный вклад экзогенных модифицируемых факторов и их сочетаний в развитие РЯ. В представленной выборке наиболее значимая связь наблюдалась с табакокурением, а также комбинацией курения и ожирения, что соответствует международным эпидемиологическим данным [32, 36, 157, 158].

Эти результаты обосновывают необходимость полноценного сбора анамнеза женщин с повышенным риском РЯ. Выделение ключевых модифицируемых факторов, в частности курения и избыточной массы тела, создает основу для целенаправленных профилактических вмешательств. Это предполагает оптимизацию скрининговых алгоритмов и внедрение адресных превентивных программ для групп повышенного риска, а также разработку индивидуальных профилактических стратегий, интегрирующих как генетические маркеры, так и корригируемые факторы риска, что может способствовать снижению заболеваемости РЯ, в том числе в когорте женщин с генетической предрасположенностью. Оптимизация подходов к лечению и профилактике развития РЯ должно быть комплексным и последовательным, включающим формирование групп повышенного риска, основываясь на различных факторах.

Безусловно, проведение МГИ при установлении диагноза РЯ показано всем пациенткам, однако результаты проведенного исследования подтверждают

недостаточность охвата пациенток МГИ по ряду различных причин. Улучшить данный показатель возможно при формировании приоритетности прохождения МГИ, принимая во внимание критерии возраста, наличия отягощенного онкологического анамнеза, гистологической формы РЯ, а также уровень биохимических онкомаркеров СА-125 и He4 до начала лечения.

Таким образом, важно отметить, что совершенствование качества лечения и профилактики РЯ неизбежно должно основываться на понимании патогенетических механизмов развития данной онкологической патологии. В связи с чем, недостаточная изученность иницилирующих патогенетических механизмов, а также отсутствие понимания и учета этнических особенностей, является проблемой как фундаментальной, так и клинической медицины. В ходе нашего исследования были изучены молекулярно-генетические механизмы патогенеза РЯ у крымских пациенток, основанные на определении роли мутаций генов *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PALB2*, схематично представленные на рисунке 22.

Полученные данные дополняют и расширяют существующие знания о патогенезе РЯ, подтверждая с одной стороны универсальность общих путей канцерогенеза и выявляя дивергенции в молекулярно-генетическом профиле заболевания с другой. Результаты исследования могут послужить основой к формированию регионарно-специфического молекулярно-генетического профиля РЯ в Крыму, подчеркивая необходимость реализации дальнейших исследований на генетически изолированных и этнически уникальных популяциях в целом.

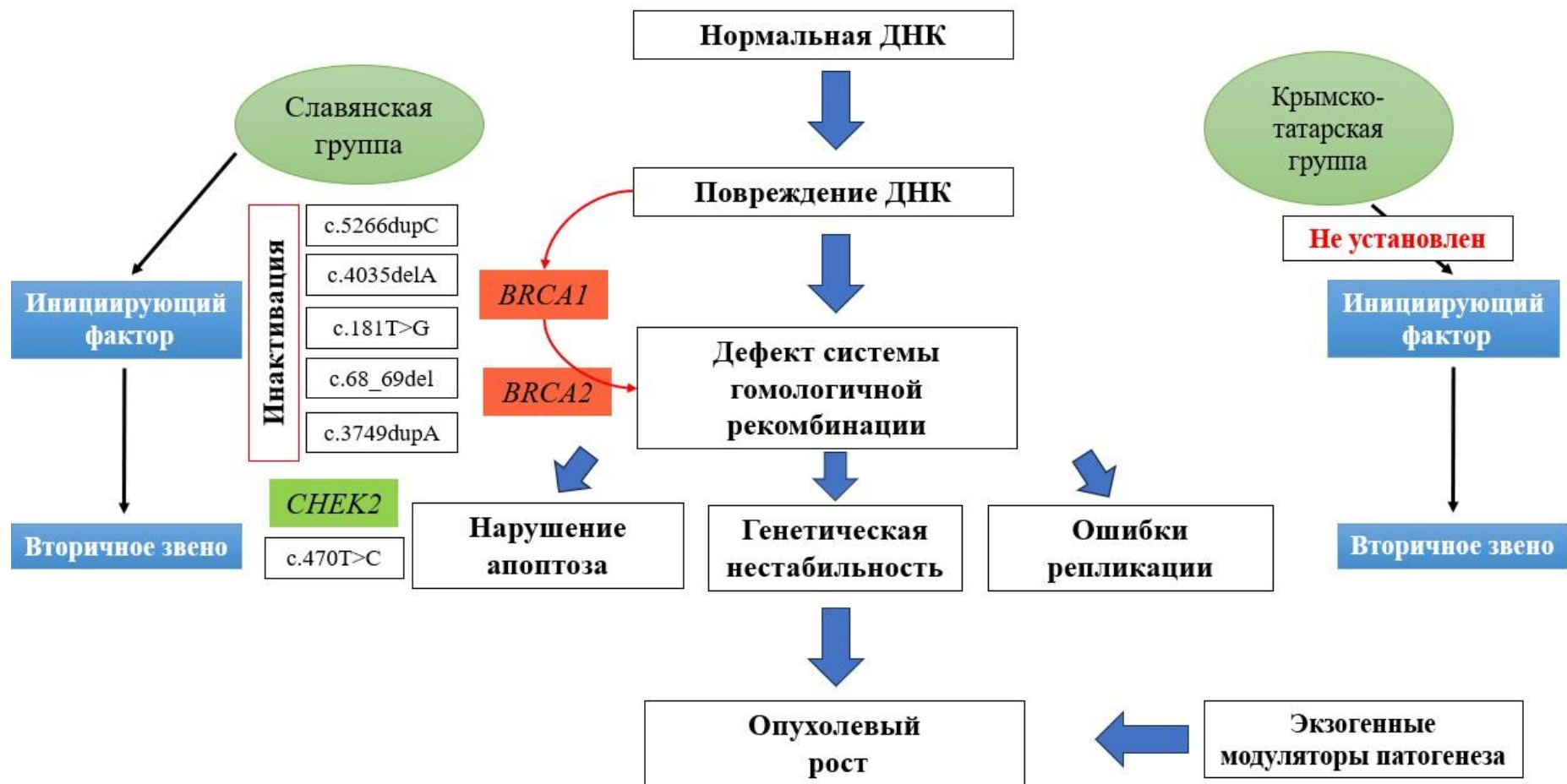


Рисунок 22. Роль молекулярно-генетических маркеров и мутаций в патогенезе рака яичников у пациенток разных этнических групп Республики Крым

В данном контексте интеграция патогенетических знаний в клинические алгоритмы оказания помощи онкологическим больным позволит на практике реализовать стратегию персонализированного подхода к профилактике и лечению онкологических заболеваний, в частности рака яичников.

ВЫВОДЫ

1. В славянской подгруппе крымских пациенток с раком яичников установлен спектр и распространённость герминальных мутаций генов наследственной предрасположенности к раку яичников, представленный вариантами *BRCA1* с.5266dupC (5,8 %), с.4035delA (3,3 %), с.181T>G (1,7 %), с.68_69del (0,8 %), а также мутациями гена *BRCA2* с.3749dupA (0,8 %) и *CHEK2* с.470T>C (1,6 %). В контрольной группе здоровых женщин идентифицированы носительство *BRCA1* с.5266dupC (1 %) и *CHEK2* с.470T>C (4 %). В крымскотатарской популяции искомые мутации в исследованной выборке пациенток основной группы не выявлены, одна носительница мутации *CHEK2* с.470T>C относилась к контрольной группе.

2. Инактивация генов *BRCA1* и *BRCA2* является значимым и ведущим звеном патогенеза рака яичников для славян, повышая риск развития заболевания более чем в 10 раз (OR = 11,91, p = 0,0017). Полиморфизм *CHEK2* с.470T>C, напротив, не продемонстрировал статистически значимой ассоциации с повышенным риском возникновения рака яичников в обеих исследованных этнических группах (OR = 0,41; p = 0,43).

3. Носительство мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* ассоциировано с более агрессивным течением рака яичников, характеризующегося: достоверно более ранним возрастом манифестации (52,8±9,4 года против 62,6±8,9 лет; p<0,0001); преобладанием низкодифференцированных серозных и эндометриодных карцином высокой и умеренной степени злокачественности; более высокими концентрациями сывороточных онкомаркеров СА-125 (p = 0,0001) и HE4 (p = 0,002) до начала лечения.

4. Установлено отсутствие статистически значимых различий в клинико-морфологических характеристиках рака яичников (возраст манифестации, гистологический тип, степень дифференцировки) между славянской и крымскотатарской этническими группами, несмотря на выявленные различия в молекулярно-генетических профилях, что свидетельствует о единстве конечных

патогенетических звеньев заболевания при возможном различии иницирующих молекулярно-генетических событий.

5. Установлены особенности молекулярно-генетического патогенеза рака яичников в крымской популяции: вклад «фаундер»-мутации *BRCA1*c.5266dupC и мутации *BRCA1*c.181T>G в патогенез РЯ для крымских пациенток славянской этнической группы снижен, тогда как более редкий вариант *BRCA1*c.4035delA встречается значительно чаще в сравнении с общероссийской популяцией ($p=0,0046$). Вклад трех мутаций гена *BRCA1*, входящие в стандартную диагностическую панель (с.1961del, 3700_3104del, 3755_3758del), в патогенез рака яичников в исследованной выборке минимален.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Модификация молекулярно-генетической панели мутаций, используемой при проведении МГИ методом ПЦР у крымских пациенток с раком яичников, с включением в панель вариантов *CHEK2*c.470T>C и *BRCA2*c.3749dupA позволит повысить эффективность генотипирования в регионе и оптимизировать действующие терапевтические и профилактические алгоритмы.

2. Необходимо учитывать высокую концентрация биохимических онкомаркеров СА-125 и He4 вне зависимости от менструальной функции до начала лечения как дополнительный критерий отбора пациенток для приоритетной категории при направлении на МГИ.

3. Направление на проведение более чувствительных методов генотипирования для исключения ложноотрицательных результатов при негативном результате первичной молекулярно-генетической диагностики методом ПЦР в случае наличия клинических признаков наследственной формы рака яичников, в частности у крымских татарок, позволит достичь максимальной персонализации в лечении и профилактике рака яичников.

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ

- ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
- ДИ – доверительный интервал
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ДЦР – двухцепочечные разрывы
- ЗГТ – заместительная гормональная терапия
- ЗНО – злокачественное новообразование
- ИМТ – индекс массы тела
- КТ – компьютерная томография
- МГИ – молекулярно-генетическое исследование
- ОР – отношение рисков
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- ПХТ – полихимиотерапия
- РМЖ – рак молочной железы
- РЯ – рак яичников
- СПКЯ – синдром поликистозных яичников
- УЗИ – ультразвуковое исследование
- АТМ – ataxia telangiectasia mutata
- BRCA1 – Breast Cancer gene 1
- BRCA2 – Breast Cancer gene 2
- CA-125 – Cancer Antigen 125
- CHEK2 – Checkpoint kinase 2
- FIGO – International Federation of Gynecology and Obstetrics
- He4 – Human Epididymis Protein 4
- HER2 – Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
- НОХ – Homeobox
- HR – Homologous Recombination
- KRAS – Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog
- NBS1 – Nijmegen Breakage Syndrome 1

NHEJ – Non-Homologous End Joining

PALB2 – Partner and Localizer of BRCA2

PARP – Poly(ADP-ribose) polymerase

PTEN – Phosphatase and TENsin homolog

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bray, F. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray, M. Laversanne, H. Sung [et al.] // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2024. – Vol. 74, No. 3. – P. 229–263. DOI: 10.3322/caac.21834.
2. Каприн, А. Д. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность) / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзадова ; под ред. А. Д. Каприна. – М. : МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. – 252 с.
3. Gaona-Luviano, P. Epidemiology of ovarian cancer / P. Gaona-Luviano, L. A. Medina-Gaona, K. Magaña-Pérez // *Chinese Clinical Oncology*. – 2020. – Vol. 9, No. 4. – P. 47. DOI: 10.21037/cco-20-34.
4. Ерменбаев, Д. Е. Диагностика и лечение рака яичника / Д. Е. Ерменбаев, Ж. А. Раманкулова, А. М. Кожабаяева // *Вестник Казахского Национального медицинского университета*. – 2019. – № 1. – С. 138–140.
5. Lheureux, S. Epithelial ovarian cancer / S. Lheureux, C. Gourley, I. Vergote, A. M. Oza // *The Lancet*. – 2019. – Vol. 393, No. 10177. – P. 1240–1253. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)32552-2.
6. Torre, L. A. Ovarian cancer statistics, 2018 / L. A. Torre [et al.] // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2018. – Vol. 68, No. 4. – P. 284–296. DOI: 10.3322/caac.21456.
7. Имянитов, Е. Н. Скрининг для лиц с наследственной предрасположенностью к раку // *Практическая онкология*. – 2010. – Т. 11, № 2. – С. 102–109.
8. Строганова, А. М. Анализ результатов многолетнего массового скрининга мутаций в генах BRCA1/2 у больных с различными типами злокачественных новообразований / А. М. Строганова, Н. И. Поспехова, Д. А. Головина [и др.] // *РМЖ*. – 2022. – Т.66 № 6. – С. 297-308. DOI: 10.32364/2587-6821-2022-6-6-297-308.

9. Jelovac, D. Recent progress in the diagnosis and treatment of ovarian cancer / D. Jelovac, D. K. Armstrong // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2011. – Vol. 61, No. 3. – P. 183–203. – DOI: 10.3322/caac.20113.
10. Lalwani, N. Histologic, molecular, and cytogenetic features of ovarian cancers: implications for diagnosis and treatment / N. Lalwani [et al.] // *Radiographics*. – 2011. – Vol. 31, No. 3. – P. 625–646. DOI: 10.1148/rg.313105066.
11. Ghose, A. Hereditary Ovarian Cancer: Towards a Cost-Effective Prevention Strategy / A. Ghose, A. Bolina, I. Mahajan et al. // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2022. – Vol. 19, No. 19. – Art. No. 12057. DOI: 10.3390/ijerph191912057.
12. Kanchi, K. L. Integrated analysis of germline and somatic variants in ovarian cancer / K. L. Kanchi, K. J. Johnson, C. Lu [et al.] // *Nature Communications*. – 2014. – Vol. 5. – Art. No. 3156. DOI: 10.1038/ncomms4156.
13. Богомолова, О. А. Герминальные мутации в генах BRCA1 и BRCA2 у пациенток Юга России с клиническими признаками наследственного рака молочной железы / О. А. Богомолова, Д. И. Водолажский, Ю. С. Шатова [и др.] // *Злокачественные опухоли: Материалы III Ежегодной Всероссийской научно-практической конференции с международным участием*. – 2017. – С. 77–77.
14. Martinez, J. S. BRCA2 regulates DMC1-mediated recombination through the BRC repeats / J. S. Martinez, C. von Nicolai, T. Kim [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2016. – Vol. 113, no. 13. – P. 3515–3520. DOI: 10.1073/pnas.1601691113.
15. Батенева, Е. И. Обоснование состава диагностической панели для генетического скрининга больных раком молочной железы и/или раком яичников: спектр частых мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 в российской популяции / Е. И. Батенева, В. В. Кадочникова, Д. Ю. Трофимов [и др.] // *Медицинская генетика*. – 2013. – Т. 12, № 12. – С. 26–31.
16. Любченко, Л. Н. Медико-генетическое консультирование и ДНК диагностика при наследственной предрасположенности к раку молочной железы и рака яичников / Л. Н. Любченко, Е. И. Батенева. – М.: ИГ РОНЦ, 2014. – 75 с.

17. Гервас, П. А. Этнические аспекты наследственного рака молочной железы / П. А. Гервас, А. Ю. Молоков, Е. В. Панферова [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2019. – № 2. – С. 102–108. DOI: 10.21294/1814-4861-2019-18-2-102-108.
18. Олексенко, В. В. BRCA-ассоциированный рак молочной железы / В. В. Олексенко, К. А. Алиев // Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – Т. 20, № 4. – С. 162-168.
19. Бермишева, М. А. Распространенность мутации с.5161C>Т гена BRCA1 у пациентов с онкологическими заболеваниями из Республики Башкортостан / М. А. Бермишева, Г. Ф. Зиннатуллина, И. Р. Гилязова [и др.] // Успехи молекулярной биологии. – 2020. – Т. 8, № 4. – С. 84–93. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-4-84-93.
20. Бермишева, М. А. Частота выявления мутации 5382insC гена BRCA1 / М. А. Бермишева, Г. Ф. Зиннатуллина, Э. К. Хуснутдинова // Вопросы онкологии. – 2008. – Т. 54, № 1. – С. 31–34.
21. Файсахова, Р. Р. Наследственный рак яичников: вклад изменений генов-кандидатов в патогенез заболевания / Р. Р. Файсахова, Д. С. Прокофьева, Э. К. Хуснутдинова, Д. Д. Сакаева, М. Г. Гордиев // Медицинская генетика. – 2019. – Т. 18, № 11. – С. 3–13. DOI: 10.25557/2073-7998.2019.11.3-13.
22. Hunter, S. M. Molecular profiling of low-grade serous ovarian tumors identifies new candidate driver genes / S. M. Hunter, M. S. Anglesio, G. L. Ryland [et al.] // Oncotarget. – 2015. – Vol. 6, No. 34. – P. 37663–37677. DOI: 10.18632/oncotarget.5438.
23. Siegel, R. L. Cancer statistics, 2019 / R. L. Siegel, K. D. Miller, A. Jemal // CA: A Cancer Journal for Clinicians. – 2019. – Vol. 69, No. 1. – P. 7–34. DOI: 10.3322/caac.21551.
24. Toss, A. Hereditary ovarian cancer: not only BRCA1 and 2 genes / A. Toss, C. Tomasello, E. Razzaboni [et al.] // BioMed Research International. – 2015. – Vol. 2015. – Art. ID 341723. DOI: 10.1155/2015/341723.
25. Preobrazhenskaya, E. V. Frequency and molecular characteristics of

PALB2-associated cancers in Russian patients / E. V. Preobrazhenskaya, A. U. Shleykina, O. A. Gorustovich [et al.] // *International Journal of Cancer*. – 2021. – Т. 148, № 1. – С. 203-210. DOI: 10.1002/ijc.33317.

26. Moore, R. G. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass / R. G. Moore, D. S. McMeekin, A. K. Brown [et al.] // *Gynecologic Oncology*. – 2009. – Vol. 112, no. 1. – P. 40–46. DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.08.031.

27. Лаптиев, С.А. Молекулярно-генетический «портрет» рака молочной железы / С. А. Лаптиев, М. А. Корженевская, Е. Н. Имянитов // *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова*. – 2017. – Т. 24, № 2. – С. 12–22. DOI: 10.24884/1607-4181-2017-24-2-12-22.

28. Alberts, B. *Molecular biology of the cell* / B. Alberts [et al.]. – 5th ed. – New York: Garland Science, 2012. – P. 1205–1212.

29. Лаптиев, С. А. Медико-генетическое консультирование при наследственных формах рака молочной железы и рака яичников / С. А. Лаптиев, М. А. Корженевская, А. П. Соколенко [и др.] // *Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова*. – 2018. – Т. 25, № 2. – С. 7-18. DOI: 10.24884/1607-4181-2018-25-2-7-18.

30. Knudson, A. *Cancer genetics* / A. Knudson // *American Journal of Medical Genetics*. – 2002. – Vol. 111, no. 1. – P. 96–102. DOI: 10.1002/ajmg.10320.

31. Knudson, A. Two genetic hits (more or less) to cancer / A. Knudson // *Nature Reviews Cancer*. – 2001. – Vol. 1, no. 2. – P. 157–162.

32. Карелина, О. Б. Факторы риска рака яичника и возможные превентивные стратегии / О. Б. Карелина, Н. В. Артымук, Т. И. Фетисова // *Фундаментальная и клиническая медицина*. – 2018. – Т. 3, № 3. – С. 91-96. DOI: 10.23946/2500-0764-2018-3-3-91-96.

33. Chen, Y. Opportunistic salpingectomy at benign gynecological surgery for reducing ovarian cancer risk: a 10-year single centre experience from China and a literature review / Y. Chen, H. Du, L. Bao, W. Liu // *Journal of Cancer*. – 2018. – Vol.

9, no. 1. – P. 141–147. DOI:10.7150/jca.21187.

34. Conte, C. Hereditary women's cancer: management and risk-reducing surgery / C. Conte, S. Pelligra, G. Sarpietro [et al.] // *Medicina (Kaunas)*. – 2023. – Vol. 59, No. 2. – Art. 300. DOI: 10.3390/medicina59020300.

35. Fukui, Y. Polycystic ovarian morphology may be a positive prognostic factor in patients with endometrial cancer who achieved complete remission after fertility-sparing therapy with progestin / Y. Fukui, A. Taguchi, K. Adachi [et al.] // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2017. – Vol. 18, no.11. – P. 3111-3116. DOI: 10.22034/APJCP.2017.18.11.3111.

36. Ko, K. P. The association between smoking and cancer incidence in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers / K. P. Ko, S. J. Kim, T. Huzarski [et al.] // *International Journal of Cancer*. – 2018. – Vol. 142, no. 11. – P. 2263- 2272. DOI: 10.1038/35101031.

37. Лыжко, Н. А. Молекулярно-генетические механизмы инициации, промоции и прогрессии опухолей / Н. А. Лыжко // *Российский биотерапевтический журнал*. – 2017. – Т. 16, № 4. – С. 7–17. DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-4-7-17.

38. Lynch, H. T. Hereditary ovarian carcinoma: heterogeneity, molecular genetics, pathology, and management / H. T. Lynch, M. J. Casey, C. L. Snyder [et al.] // *Molecular Oncology*. – 2009. – Vol. 3, no. 2. – P. 97-137. DOI: 10.1016/j.molonc.2009.02.004.

39. Mavaddat, N. Familial relative risks for breast cancer by pathological subtype: a population-based cohort study / N. Mavaddat [et al.] // *Breast Cancer Research*. – 2010. – Vol. 12, No. 1. – Art. R10. DOI: 10.1186/bcr2476.

40. Lerner-Ellis, J. Multigene panel testing for hereditary breast and ovarian cancer in the province of Ontario / J. Lerner-Ellis, C. Mighton, C. Lazaro [et al.] // *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. – 2021. – Vol. 147, No. 3. – P. 871–879. DOI: 10.1007/s00432-020-03377-6.

41. Groep, P. Pathology of hereditary breast cancer / P. Groep [et al.] // *Cellular Oncology*. – 2011. – Vol. 34, no. 2. – P. 71–88. DOI: 10.1007/s13402-011-0010-3.

42. Cho, K. R. Ovarian cancer update: lessons from morphology, molecules, and mice / K. R. Cho // *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. – 2009. – Vol.

133, no. 11. – P. 1775–1781. DOI: 10.5858/133.11.1775.

43. Sadlecki, P. Molecular diagnosis in type I epithelial ovarian cancer / P. Sadlecki, M. Walentowicz-Sadlecka, M. Grabiec // *Ginekologia polska*. – 2017. – Vol. 88, No. 12. – P. 692–697. DOI: 10.5603/GP.a2017.0123.

44. Vanyushin, B. F. Rare bases in animal DNA / B. F. Vanyushin, S. G. Tkacheva, A. N. Belozersky // *Nature*. – 1970. – Vol. 225, no. 5236. – P. 948–949. DOI: 10.1038/225948a0.

45. Семиглазов, В. В. Особенности клинического течения и лечения наследственных форм рака молочной железы и рака яичников / В. В. Семиглазов, А. Э. Протасова, Г. К. Каликеев // *Опухоли женской репродуктивной системы*. – 2020. – Т. 16, № 4. – С. 54–65. DOI: 10.17650/1994-4098-2020-16-4-54-65.

46. Shi, H. Association between RASSF1A promoter methylation and ovarian cancer: a meta-analysis / H. Shi, Y. Li, X. Wang [et al.] // *PLOS ONE*. – 2013. – Vol. 8, no. 10. – Article e76787. DOI: 10.1371/journal.pone.0076787/

47. Любченко, Л. Н. Наследственный рак молочной железы и/или яичников: ДНК-диагностика, индивидуальный прогноз, лечение и профилактика: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук: 14.01.12 / Л. Н. Любченко. – Москва, 2009. – 40 с.

48. Chatterjee, N. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis / N. Chatterjee, G. C. Walker // *Environmental and Molecular Mutagenesis*. – 2017. – Vol. 58, no. 5. – P. 235–263. DOI: 10.1002/em.22087.

49. Gorodetska, I. BRCA genes: the role in genome stability, cancer stemness and therapy resistance / I. Gorodetska, I. Kozeretska, A. Dubrovskaya // *Journal of Cancer*. – 2019. – Vol. 10, No. 9. – P. 2109–2127. DOI: 10.7150/jca.30410

50. Litvinov, S. V. The main repair pathways of double-strand breaks in the genomic DNA and interaction between them / S. V. Litvinov // *Cytology and Genetics*. – 2014. – Vol. 48, no. 3. – P. 64–77.

51. Bunting, S. F. 53BP1 inhibits homologous recombination in Brca1-deficient cells by blocking resection of DNA breaks / S. F. Bunting, E. Callen, N. Wong [et al.] // *Cell*. – 2010. – Vol. 141, no. 2. – P. 243–254. DOI: 10.1016/j.cell.2010.03.012.

52. Hall, J. M. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21 / J. M. Hall, M. K. Lee, B. Newman [et al.] // *Science*. – 1990. – Vol. 250, no. 4988. – P. 1684-1689. DOI: 10.1126/science.2270482.
53. Miki, Y. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1 / Y. Miki, J. Swensen, D. Shattuck-Eidens [et al.] // *Science*. – 1994. – Vol. 266, no.5182. – P. 66-71. DOI:10.1126/science.7545954.
54. Narod, S. A. BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond / S. A. Narod, W. D. Foulkes // *Nature Reviews Cancer*. – 2004. – Vol. 4, No. 9. – P. 665–676. DOI: 10.1038/nrc1431.
55. Caestecker, K. The role of BRCA1 in DNA double-strand repair: past and present / K. Caestecker, G. Van de Walle // *Experimental Cell Research*. – 2013. – Vol. 319, no. 5. – P. 575–587. DOI: 10.1016/j.yexcr.2013.01.015.
56. Christou, C. M. BRCA1 and its network of interacting partners / C. M. Christou, K. Kyriacou // *Biology*. – 2013. – Vol. 2, no. 1. – P. 40–63.
57. Dever, S. Mutations in the BRCT binding site of BRCA1 result in hyper-recombination / S. Dever, S. E. Golding, E. Rosenberg [et al.] // *Aging*. – 2011. – Vol. 3, no. 5. – P. 515–532. DOI: 10.18632/aging.100325.
58. Wu, W. The ubiquitin E3 ligase activity of BRCA1 and its biological functions / W. Wu, A. Koike, T. Takeshita [et al.] // *Cell Division*. – 2008. – Vol.3. – Article 1. DOI: 10.1186/1747-1028-3-1.
59. Tarapore, P. Analysis of centrosome localization of BRCA1 and its activity in suppressing centrosomal aster formation / P. Tarapore, K. Hanashiro, K. Fukasawa // *Cell Cycle*. – 2012. – Vol. 11, no. 15. – P. 2931–2946. DOI: 10.4161/cc.21396.
60. Brodie, K. Characterization of BRCA1 protein targeting, dynamics, and function at the centrosome: a role for the nuclear export signal, CRM1, and Aurora A kinase / K. Brodie, B. Henderson // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2012. – Vol. 287, no. 10. – P. 7701–7716. DOI: 10.1074/jbc.M112.340190.
61. Deng, C. X. Roles of BRCA1 in centrosome duplication / C. X. Deng // *Oncogene*. – 2002. – Vol. 21, no. 40. – P. 6222–6227. DOI: 10.1038/sj.onc.1205713.
62. Zhang, F. PALB2 functionally connects the breast cancer susceptibility

proteins BRCA1 and BRCA2 / F. Zhang, Q. Fan, K. Ren, P. R. Andreassen // *Molecular Cancer Research*. – 2009. – Vol. 7, no. 7. – P. 1110– 1118. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-09-0123.

63. Zong, D. BRCA1 Haploinsufficiency is masked by RNF168- mediated chromatin ubiquitylation / D. Zong, S. Adam, Y. Wang [et al.] // *Molecular Cell*. – 2019. – Vol. 73, no. 6. – P. 1267–1281. DOI: 10.1016/j.molcel.2018.12.010.

64. Stratton, M. R. Familial male breast cancer is not linked to the BRCA1 locus on chromosome 17q / M. R. Stratton, D. Ford, S. Neuhasen [et al.] // *Nature Genetics*. – 1994. – Vol. 7, no. 1. – P. 103-107. DOI: 10.1038/ng0594-103.

65. Wooster, R. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13 / R. Wooster, S. L. Neuhausen, J. Mangion, Y. Quirk, D. Ford [et al.] // *Science*. – 1994. – Vol. 265, No. 5181. – P. 2088– 2090. DOI: 10.1126/science.8091231.

66. Oliver, A. W. Structural basis for recruitment of BRCA2 by PALB2 / A. W. Oliver, S. Swift, C. J. Lord [et al.] // *EMBO Reports*. – 2009. – Vol. 10, no.9. – P. 990– 996. DOI: 10.1038/embor.2009.126.

67. Sy, S. M. PALB2 is an integral component of the BRCA complex required for homologous recombination repair / S. M. Sy, M. S. Huen, J. Chen // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2009. – Vol. 106, no. 17. – P. 7155–7160. DOI: 10.1073/pnas.0811159106.

68. San Filippo, J. Mechanism of Eukaryotic Homologous Recombination / J. San Filippo, P. Sung, H. Klein // *Annual Review of Biochemistry*. – 2008. – Vol. 77. – P. 229–257. DOI: 10.1146/annurev.biochem.77.061306.125255.

69. Esashi, F. CDK-dependent phosphorylation of BRCA2 as a regulatory mechanism for recombinational repair / F. Esashi, N. Christ, J. Gannon [et al.] // *Nature*. – 2005. – Vol. 434, no. 7033. – P. 598–604. DOI: 10.1038/nature03404.

70. Xia, B. Control of BRCA2 cellular and clinical functions by a nuclear partner, PALB2 / B. Xia, Q. Sheng, K. Nakanishi [et al.] // *Molecular Cell*. – 2006. – Vol. 22, no. 6. – P. 719–729. DOI: 10.1016/j.molcel.2006.05.022.

71. Poupouridou, N. Hereditary breast cancer: outside of the BRCA genetic

analysis; PALB2 appears / N. Poupouridou, S. Kroupis // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. – 2012. – Vol. 50, No. 3. – P. 423–434. DOI: 10.1515/cclm-2011-0840.

72. Murphy, A. K. Phosphorylated RPA recruits PALB2 to stalled DNA replication forks to facilitate fork recovery / A. K. Murphy, M. Fitzgerald, T. Ro [et al.] // *The Journal of Cell Biology*. – 2014. – Vol. 206, no. 4. – P. 493–507. DOI: 10.1083/jcb.201404111.

73. Park, J. Y. PALB2: the hub of a network of tumor suppressors involved in DNA damage responses / J. Y. Park, F. Zhang, P. R. Andreassen // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. – 2014. – Vol. 1846, No. 1. – P. 263–275. DOI: 10.1016/j.bbcan.2014.06.003.

74. Buisson, R. Cooperation of breast cancer proteins PALB2 and piccolo BRCA2 in stimulating homologous recombination / R. Buisson, A. M. Dion-Côté, Y. Coulombe, H. Launay, H. Cai, A. Z. Stasiak, A. Stasiak, B. Xia, J. Y. Masson // *Nature Structural & Molecular Biology*. – 2010. – Vol. 17, No. 10. – P. 1247–1254. DOI: 10.1038/nsmb.1915.

75. Ma, J. PALB2 interacts with KEAP1 to promote NRF2 nuclear accumulation and function / J. Ma, H. Cai, T. Wu [et al.] // *Molecular and Cellular Biology*. – 2012. – Vol. 32, no. 8. – P. 1506–1517. DOI: 10.1128/MCB.06271-11.

76. Orthwein, A. A mechanism for the suppression of homologous recombination in G1 cells / A. Orthwein, S. M. Noordermeer, M. D. Wilson [et al.] // *Nature*. – 2015. – Vol. 528, No. 7582. – P. 422–426. DOI: 10.1038/nature16142.

77. Bertram, M. J. Conservation of the MORF4 related gene family: identification of a new chromo domain subfamily and novel protein motif / M. J. Bertram, O. M. Pereira-Smith // *Gene*. – 2001. – Vol. 266. – P. 111–121.

78. Bleuyard, J. Y. MRG15-mediated tethering of PALB2 to unperturbed chromatin protects active genes from genotoxic stress / J. Y. Bleuyard, M. Fournier, R. Nakato [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2017. – Vol. 114, no. 29. – P. 7671–7676. DOI: 10.1073/pnas.1702076114.

79. Bowman, B. R. Multipurpose MRG domain involved in cell senescence and

proliferation exhibits structural homology to a DNA- interacting domain / B. R. Bowman, C. M. Moure, B. M. Kirtane [et al.] // *Structure*. – 2006. – Vol. 14, no. 1. – P. 151–158. DOI: 10.1016/j.str.2005.08.019.

80. Ferla, R. Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes / R. Ferla, V. Cal, S. Cascio [et al.] // *Annals of Oncology*. – 2007. – Vol. 18, suppl. 6. – P.vi93–vi98. DOI: 10.1093/annonc/mdm234.

81. Hayakawa, T. MRG15 binds directly to PALB2 and stimulates homology-directed repair of chromosomal breaks / T. Hayakawa, F. Zhang, N. Hayakawa [et al.] // *Journal of Cell Science*. – 2010. – Vol. 123, no. 7. – P. 1124–1130. DOI: 10.1242/jcs.060178

82. Carter, N. J. Germline pathogenic variants identified in women with ovarian tumors / N. J. Carter, M. L. Marshall, L. R. Susswein et al. // *Gynecologic Oncology*. – 2018. – Vol. 151, No. 3. – P. 481–488. DOI: 10.1016/j.ygyno.2018.09.030.

83. Luijsterburg, M. S. A PALB2-interacting domain in RNF168 couples homologous recombination to DNA break-induced chromatin ubiquitylation / M. S. Luijsterburg, D. Typas, M. C. Caron [et al.] // *eLife*. – 2017. – Vol. 6. – Article e20922. DOI: 10.7554/eLife.20922.

84. Pauty, J. Cancer-causing mutations in the tumor suppressor PALB2 reveal a novel cancer mechanism using a hidden nuclear export signal in the WD40 repeat motif / J. Pauty, A. M. Couturier, A. Rodrigue, M. C. Caron, Y. Coulombe, G. Dellaire [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2017. – Vol. 45, No. 5. – P. 2644–2657. DOI: 10.1093/nar/gkx011.

85. Menzel, T. A genetic screen identifies BRCA2 and PALB2 as key regulators of G2 checkpoint maintenance / T. Menzel, V. Nahse-Kumpf, A. N. Kousholt [et al.] // *EMBO Reports*. – 2011. – Vol. 12, no. 7. – P. 705-712. DOI: 10.1038/embor.2011.99

86. Bartek, J. CHK2 kinase – a busy messenger / J. Bartek, J. Falck, J. Lukas // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2001. – Vol. 2. – P. 877– 886. DOI: 10.1038/35103059.

87. Matsuoka, S. Linkage of ATM to cell cycle regulation by the Chk2 protein kinase / S. Matsuoka, M. Huang, S. J. Elledge // *Science*. – 1998. – Vol. 282, No. 5395.

– P. 1893–1897. DOI: 10.1126/science.282.5395.1893.

88. Bell, D. W. Heterozygous germline hCHK2 mutations in Li- Fraumeni Syndrome / D. W. Bell, J. M. Varley, T. E. Szydlo [et al.] // *Science*. – 1999. – Vol. 286, no. 5449. – P. 2528-2531. DOI: 10.1126/science.286.5449.2528.

89. Kastan, M. B. Cell-cycle checkpoints and cancer / M. B. Kastan, J. Bartek // *Nature*. – 2004. – Vol. 432, no. 7015. – P. 316-323. DOI: 10.1038/nature03097.

90. Li, J. Structural and functional versatility of the FHA domain in DNA-damage signaling by the tumor suppressor kinase Chk2 / J. Li, B. L. Williams, L. F. Haire [et al.] // *Molecular Cell*. – 2002. – Vol. 9, no. 5. – P. 1045–1054. DOI: 10.1016/s1097-2765(02)00527-0.

91. Ahn, J. The Chk2 protein kinase / J. Ahn, M. Urist, C. Prives // *DNA Repair*. – 2004. – Vol. 3, No. 8–9. – P. 1039–1047. – DOI: 10.1016/j.dnarep.2004.03.033.

92. Allen, J. B. The SAD1/RAD53 protein kinase controls multiple checkpoints and DNA damage-induced transcription in yeast / J. B. Allen, Z. Zhou, W. Siede [et al.] // *Genes & Development*. – 1994. – Vol. 8. – P. 2401–2415. DOI: 10.1101/gad.8.20.2401.

93. Committee on Gynecologic Practice. The role of the obstetrician-gynecologist in the early detection of epithelial ovarian cancer : Committee Opinion No. 477 / Committee on Gynecologic Practice // *Obstetrics and gynecology*. – 2011. – Vol. 117, No. 3. – P. 742–746. DOI: 10.1097/AOG.0b013e31821477db.

94. Fishman, D. A. The role of ultrasound evaluation in the detection of early-stage epithelial ovarian cancer / D. A. Fishman, L. Cohen, S. V. Blank [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2005. – Vol. 192, no. 4. – P.1214–1221.

95. Kinkel, K. US characterization of ovarian masses: a meta-analysis / K. Kinkel, H. Hricak, Y. Lu [et al.] // *Radiology*. – 2000. – Vol. 217, no. 3. – P. 803–811. DOI: 10.1148/radiology.217.3.r00dc20803.

96. Sessa, C. Risk reduction and screening of cancer in hereditary breast-ovarian cancer syndromes: ESMO Clinical Practice Guideline / C. Sessa, J. Balmaña, S. L. Bober [et al.] // *Annals of Oncology*. – 2023. – Vol. 34, No. 1. – P. 33–47. DOI: 10.1016/j.annonc.2022.10.004.

97. Bast, R. C. Jr. Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma / R. C. Bast Jr., M. Feeney, H. Lazarus [et al.] // *The Journal of Clinical Investigation*. – 1981. – Vol. 68, no. 5. – P. 1331–1337. DOI: 10.1172/jci110380.

98. Gold, P. Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques / P. Gold, S. O. Freedman // *The Journal of Experimental Medicine*. – 1965. – Vol. 121, no. 3. – P.439–462. DOI: 10.1084/jem.121.3.439.

99. Rai, A. J. Proteomic approaches to tumor marker discovery / A. J. Rai, Z. Zhang, J. Rosenzweig [et al.] // *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. – 2002. – Vol. 126, no. 12. – P. 1518–1526. DOI: 10.5858/2002-126-1518-PATTMD.

100. Smith, R. A. Cancer screening in the United States, 2017: a review of current American cancer society guidelines and current issues in cancer screening / R. A. Smith, K. S. Andrews, D. Brooks [et al.] // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2017. – Vol. 67, No. 2. – P. 100–121. DOI: 10.3322/caac.21392.

101. Stirling, D. Screening for familial ovarian cancer: failure of current protocols to detect ovarian cancer at an early stage according to the International Federation of Gynecology and Obstetrics system / D. Stirling, D. G. R. Evans, G. Pichert [et al.] // *Journal of clinical Oncology*. – 2005. – Vol. 23, No. 24. – P. 5589–5596. DOI: 10.1200/JCO.2005.05.097.

102. Никогосян, С. О. Современные методы иммунодиагностики злокачественных новообразований яичников / С. О. Никогосян, З. Г. Кадагидзе, В. М. Шелепова, В. В. Кузнецов // *Онкогинекология*. – 2014. – № 3. – С. 49–54.

103. Clarke-Pearson, D. L. Clinical practice. Screening for ovarian cancer / D. L. Clarke-Pearson // *The New England Journal of Medicine*. – 2009. – Vol. 361, no. 2. – P. 170–177. DOI: 10.3390/biology2010040.

104. 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, B. Kessel, T. L. Riley [et al.] // *Gynecologic Oncology*. – 2008. – Vol. 110, no. 3. – P. 383–389. DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.05.006.

105. Neesham, D. Ovarian cancer screening / D. Neesham // *Australian Family*

Physician. – 2007. – Vol. 36, no. 3. – P. 126–128.

106. Charkhchi P. CA125 and ovarian cancer: a comprehensive review /P. Charkhchi, C. Cybulski, J. Gronwald [et al.] //Cancers. –2020. –Vol. 12, No. 12.–Art. 3730. DOI:10.3390/cancers12123730.

107. Sedlakova, I. Lysophosphatidic acid: an ovarian cancer marker / I. Sedlakova, J. Vavrova, J. Tosner, L. Hanousek // European Journal of Gynaecological Oncology. – 2008. – Vol. 29, no. 5. – P. 511–514.

108. Skates, S. J. Early detection of ovarian cancer using the risk of ovarian cancer algorithm with frequent CA125 testing in women at increased familial risk – combined results from two screening trials / S. J. Skates, M. H. Greene, S. S. Buys [et al.] // Clinical Cancer Research. – 2017. – Vol. 23, No. 14. – P. 3628–3637. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2750.

109. Skates, S. J. Calculation of the risk of ovarian cancer from serial CA-125 values for preclinical detection in postmenopausal women / S. J. Skates, U. Menon, N. MacDonald [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2003.– Vol. 21, No. 10 (Suppl.). P. 206s–210s. DOI: 10.1200/JCO.2003.02.955.

110. Ward B. G. The management of ovarian carcinoma is improved by the use of cancer-associated serum antigen and CA 125 assays / B. G. Ward, M. McGuckin, L. E. Ramm [et al.] // Cancer. – 1993. – Vol. 71, no. 2. – P. 430–438. DOI: 10.1002/1097-0142(19930115)71:2<430::aid-cncr2820710225>3.0.co;2-s.

111. Zhang, L. Comparison of CA125, HE4, and ROMA index for ovarian cancer diagnosis / L. Zhang, Y. Chen, K. Wang // Current Problems in Cancer. – 2019. – Vol. 43, No. 2. – P. 135–144. DOI:10.1016/j.currproblcancer. 2018.06.001.

112. Armstrong, D. K. Ovarian Cancer, Version 2.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology / D. K. Armstrong, R. D. Alvarez, J. N. Bakkum-Gamez [et al.] // Journal of the National Comprehensive Cancer Network. – 2021. – Vol. 19, no. 2. – P. 191-226. DOI: 10.6004/jnccn.2021.0007.

113. Соколенко, А. П. Что нужно знать о наследственном раке молочной железы и яичников / А. П. Соколенко, А. Г. Иевлева, Е. Н. Имянитов. – СПб. : Эко-вектор, 2016. – 48 с.

114. Andrews, L. P. LAG3 (CD223) as a cancer immunotherapy target / L. P. Andrews, A. E. Marciscano, C. G. Drake [et al.] // *Immunological Reviews*. – 2017. – Vol. 276, no. 1. – P. 80–96. DOI: 10.1111/imr.12519.

115. Nelson, H. D. Risk assessment, genetic counseling, and genetic testing for BRCA-related cancer in women: updated evidence report and systematic review for the US preventive services task force / H. D. Nelson, M. Pappas, A. Cantor // *JAMA*. – 2019. – Vol. 322, No. 7. – P. 666–685. – DOI: 10.1001/jama.2019.8430.

116. Paluch-Shimon, S. Prevention and screening in BRCA mutation carriers and other breast/ovarian hereditary cancer syndromes: ESMO clinical practice guidelines for cancer prevention and screening / S. Paluch-Shimon, F. Cardoso, C. Sessa, J. Balmaña, M. J. Cardoso, F. Gilbert [et al.] // *Annals of Oncology*. – 2016. – Vol. 27, Suppl. 5. – P. v103–v110. DOI: 10.1093/annonc/mdw327.

117. Finch, A. P. M. Impact of oophorectomy on cancer incidence and mortality in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation / A. P. M. Finch, J. Lubinski, P. Møller [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2014. – Vol. 32, No. 15. – P. 1547–1553. DOI: 10.1200/JCO.2013.53.2820.

118. Neuhausen, S. L. BRCA1 and BRCA2 mutation carriers in the Breast Cancer Family Registry: an open resource for collaborative research / S. L. Neuhausen, H. Ozcelik, M. C. Southey [et al.] // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2009. – Vol. 116, no. 2. – P. 379–386. DOI: 10.1007/s10549-008-0153-8.

119. Мамедов, В. А. Оценка эффективности лекарственного лечения у больных раком яичников с различным статусом гена BRCA / В. А. Мамедов, Е. В. Бахидзе, Е. Н. Имянитов // *Сибирский онкологический журнал*. – 2009. – № S1. – С. 129–130.

120. Imyanitov, E. N. Drug therapy for hereditary cancers / E. N. Imyanitov, V. M. Moiseyenko // *Hereditary Cancer in Clinical Practice*. – 2011. – Vol. 9, no. 1. – Article 5. DOI: 10.1186/1897-4287-9-5.

121. Mylavarapu, S. Role of BRCA mutations in the modulation of response to platinum therapy / S. Mylavarapu, A. Das, M. Roy // *Frontiers in Oncology*. – 2018. – Vol. 8. – Art. 16. DOI: 10.3389/fonc.2018.00016.

122. Ali, A. T. Towards prevention of ovarian cancer / A. T. Ali // *Current Cancer Drug Targets*. – 2018. – Vol. 18, no. 6. – P. 522-537. DOI: 10.2174/1568009618666180102103008.

123. Arcieri, M. How BRCA and homologous recombination deficiency change therapeutic strategies in ovarian cancer: a review of literature / M. Arcieri, A. Pietragalla, C. Marchetti et al. // *Frontiers in Oncology*. – 2024. – Vol. 14. – Art. 1335196. DOI: 10.3389/fonc.2024.1335196.

124. Langelier, M.F. PARP-1 mechanism for coupling DNA damage detection to poly-(ADP-ribose) synthesis / M. F. Langelier, J. M. Pascal // *Current Opinion in Structural Biology*. – 2013. – Vol. 23, No. 1. – P. 134–143. – DOI: 10.1016/j.sbi.2013.01.003.

125. Ledermann, J. A. PARP inhibitors in ovarian cancer / J. A. Ledermann // *Annals of Oncology*. – 2016. – Vol. 27, No. 1. – P. 40–44. DOI: 10.1093/annonc/mdw09.

126. Zaaier, L. H. Outcome of ovarian cancer after breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers / L. H. Zaaier, H. C. van Doorn, M. J. Mourits [et al.] // *British Journal of Cancer*. – 2016. – Vol. 115, No. 10. – P. 1174–1178. DOI: 10.1038/bjc.2016.294.

127. Chekmariova, E.V. CHEK2 1100delC mutation is frequent among Russian breast cancer patients / E. V. Chekmariova, A. P. Sokolenko, K. G. Buslov [et al.] // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2006. – Vol. 100, no. 1. – P.99–102. DOI: 10.1007/s10549-006-9227-7.

128. Meijers-Heijboer, H. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2*1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations / H. Meijers-Heijboer, A. van den Ouweland, J. Klijn [et al.] // *Nature Genetics*. – 2002. – Vol. 31, no. 1. – P. 55–59.

129. Sokolenko, A. P. Hereditary Breast-Ovarian Cancer Syndrome in Russia / A. P. Sokolenko, A. G. Iyevleva, N. V. Mitiushkina [et al.] // *Acta Naturae*. – 2010. – T. 2, № 4. – С. 31-35. DOI: 10.32607/20758251-2010-2-4-31-35.

130. Банержи, А. Медицинская статистика понятным языком: вводный курс / А. Банержи. – Москва : Практическая медицина, 2007. – 287 с. – ISBN 978-5-

98811-071-5.

131. Тихомирова, Т. Е. BRCA-ассоциированный рак яичников в российской популяции пациенток. Анализ неинтервенционного исследования OVATAR / А. С. Тюляндина, А. А. Румянцев, Э. Р. Израелян [и др.] // Злокачественные опухоли. – 2023. – Т. 13, №4. – С. 46–59. DOI: 10.18027/2224-5057-2023-13-4-46-59

132. Konstantinopoulos, P. A. Germline and Somatic Tumor Testing in Epithelial Ovarian Cancer: ASCO Guideline / P. A. Konstantinopoulos, B. Norquist, C. Lacchetti et al. // Journal of Clinical Oncology. – 2020. – Vol. 38, No.11. – P. 1222-1245. DOI: 10.1200/JCO.19.02960.

133. Koshiyama, M. Recent concepts of ovarian carcinogenesis: type I and type II / M. Koshiyama, N. Matsumura, I. Konishi // BioMed Research International. – 2014. – Vol. 2014. – Art. ID 934261. – DOI: 10.1155/2014/934261.

134. Pavlidis, N. The outcome of patients with serous papillary peritoneal cancer, fallopian tube cancer, and epithelial ovarian cancer by treatment eras: 27 years data from the SEER registry / N. Pavlidis, E. Rassy, J. Vermorken et al. // Cancer Epidemiology. – 2021. – Vol. 75. – Art. 102045. DOI: 10.1016/j.canep.2021.102045.

135. Walsh, T. Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinoma identified by massively parallel sequencing / T. Walsh, S. Casadei, M. K. Lee et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2011. – Vol. 108, No. 44. – P. 18032–18037. DOI: 10.1073/pnas.1115052108.

136. Pietragalla, A. Ovarian cancer predisposition beyond BRCA1 and BRCA2 genes / A. Pietragalla, M. Arcieri, C. Marchetti, G. Scambia, A. Fagotti // International Journal of Gynecological Cancer. – 2020. – Vol. 30, No. 11. – P.1803-1810. – DOI: 10.1136/ijgc-2020-001556.

137. Gadducci, A. Current strategies for the targeted treatment of high-grade serous epithelial ovarian cancer and relevance of BRCA mutational status / A. Gadducci, V. Guarneri, F. A. Peccatori [et al.] // Journal of Ovarian Research. – 2019. – Vol. 12, No. 1. – Art. 9. DOI: 10.1186/s13048-019-0484-6.

138. Kurian, A. W. Genetic testing and results in a population-based cohort of

breast cancer patients and ovarian cancer patients / A. W. Kurian, K. Ward, N. Howlander et al. // *Journal of Clinical Oncology*. – 2019. – Vol. 37, No. 15. – P.1305–1315. DOI: 10.1200/JCO.18.01854.

139. Батенева, Е. И. Частота одиннадцати мутаций генов BRCA1 и BRCA2 в неотобранной выборке больных раком молочной железы россиянок / Е. И. Батенева, А. А. Мещеряков, Л. Н. Любченко [и др.] // *Уральский медицинский журнал*. – 2011. – № 3. – С. 69–73.

140. Часовникова, О. Б. BRCA1 и BRCA2 мутации у больных раком молочной железы в сибирском регионе / О. Б. Часовникова, Д. В. Митрофанов, Д. О. Демченко [и др.] // *Сибирский онкологический журнал*. – 2010. – № 5. – С. 32–35.

141. Kleiblova, P. Identification of deleterious germline CHEK2 mutations and their association with breast and ovarian cancer / P. Kleiblova, L. Stolarova, K. Krizova et al. // *International Journal of Cancer*. – 2019. – Vol. 145, No. 7. – P. 1782–1797. DOI: 10.1002/ijc.32385.

142. Новикова, Е. И. Характеристика BRCA-ассоциированного эпителиального рака яичников в российской популяции / Е. И. Новикова, Е. А. Кудинова, В. К. Боженко // *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии*. – 2023. – № 4.

143. Lilyquist, J. Frequency of mutations in a large series of clinically ascertained ovarian cancer cases tested on multi-gene panels compared to reference controls / J. Lilyquist, H. LaDuca, E. Polley et al. // *Gynecologic Oncology*. – 2017. – Vol. 147, No. 2. – P. 375–380. DOI: 10.1016/j.ygyno.2017.08.030.

144. Батенева, Е. И. Высокая частота мутаций в генах BRCA1, BRCA2, CHEK2, NBN, BLM у больных раком яичников в российской популяции / Е. И. Батенева, М. Г. Филиппова, А. С. Тюляндина [и др.] // *Опухоли женской репродуктивной системы*. – 2014. – № 4. – С. 51–56. DOI: 10.17650/1994-4098-2014-0-4-51-56.

145. Ramus, S. J. Germline mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN genes in women with ovarian cancer / S. J. Ramus, H. Song, E. Dicks et al. // *Journal of*

the National Cancer Institute. – 2015. – Vol. 107, No. 11. – Art. djv214. DOI: 10.1093/jnci/djv214.

146. Norquist, B. M. Inherited mutations in women with ovarian carcinoma / B. M. Norquist, M. I. Harrell, M. F. Brady et al. // *JAMA Oncology*. – 2016. – Vol. 2, No. 4.– P. 482–490. DOI: 10.1001/jamaoncol.2015.5495.

147. Олексенко, В. В. Мутации генов BRCA при наследственном раке молочной железы на территории Крыма / В. В. Олексенко, К. А. Алиев, К.Д. Малый // *Вопросы онкологии*. – 2020. Т. 66, №5. – С. 507–513. DOI: 10.37469/0507-3758-2020-66-5-507-513.

148. Kuchenbaecker, K. B. Risks of breast, ovarian, and contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers / K. B. Kuchenbaecker, J. L. Hopper, D. R. Barnes [et al.] // *JAMA*. – 2017. – Vol. 317, No. 23. – P. 2402–2416. DOI: 10.1001/jama.2017.7112.

149. Akinwunmi, B. O. Chronic medical conditions and CA125 levels among women without ovarian cancer / B. O. Akinwunmi, A. Babic, A. F. Vitonis, D. W. Cramer, L. Titus, S. S. Tworoger [et al.] // *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. – 2018. – Vol. 27, No. 12. – P. 1483–1490. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-18-0610.

150. Gebhart, P. CA125 Levels in BRCA mutation carriers – a retrospective single center cohort study / P. Gebhart, C. Singer, D. Gschwantler-Kaulich // *BMC Cancer*. – 2023. – Vol. 23. – Art. 610. DOI: 10.1186/s12885-023-11116-6.

151. Gschwantler-Kaulich, D. Diagnostic markers for the detection of ovarian cancer in BRCA1 mutation carriers / D. Gschwantler-Kaulich, S. Weingartshofer, C. Rappaport-Fürhauser, R. Zeilinger, D. Pils, D. Muhr [et al.] // *PLOS ONE*. – 2017. – Vol. 12, No. 12. – Art. e0189457. DOI:10.1371/journal.pone.0189457.

152. Chen, Y. Baseline and post prophylactic tubal-ovarian surgery CA125 levels in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers / Y. Chen, E. Bancroft, S. Ashley [et al.] // *Familial Cancer*. – 2014. – Vol. 13, No. 2. – P. 197–203. DOI: 10.1007/s10689-013-9685-0.

153. Anantha, R. W. Functional and mutational landscapes of BRCA1 for

homology-directed repair and therapy resistance / R. W. Anantha, S. Simhadri, T. K. Foo [et al.] // *eLife*. – 2017. – Vol. 6. – Article e21350. DOI: 10.7554/eLife.21350

154. Baysal, B.E., DeLoia JA, Willett-Brozick JE et al. Analysis of the CHEK2 gene for predisposition to ovarian cancer // *Gynecological Oncology*. – 2004. – Vol. 95 (1). – P. 62–69. DOI: 10.1016/j.ygyno.2004.07.015.

155. Ашрафян, Л. А. Рак яичников: концепция патогенеза и принципы терапии / Л. А. Ашрафян, В. И. Киселев, Е. Л. Муйжнек [и др.] // *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. – 2015. – Т. 4, № 3. – С. 73–81. DOI:10.17116/onkolog20154373-81.

156. Alsop, K. 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, No. 21. – P. 2654–2663. DOI: 10.1200/JCO.2011.39.8545.

157. Hirasawa, A. Prevalence of pathogenic germline variants detected by multigene sequencing in unselected Japanese patients with ovarian cancer / A. Hirasawa, I. Imoto, T. Naruto [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, no. 68. – P.112258–112267. DOI: 10.18632/oncotarget.22733.

158. 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 // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2018. – Vol. 22, no. 3. – P. 1805-1815.

Другие факторы риска развития РЯ

Раннее менархе	Да/нет
Поздняя менопауза	Да/нет
Бесплодие	Да/нет
Нереализованная менструальная функция	Да/нет
СПКЯ	Да/нет
Гормональная терапия в постменопаузе	Да/нет
Курение	Да/нет
Употребление алкоголя	Да/нет
Ожирение	Да/нет

Пациент(ка) (ФИО) _____ Подпись _____

Дата « _____ » _____ 20 _____ г.