

На правах рукописи

Ковалев Олег Игоревич

**ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ШАПЕРОНОВ ПРИ  
СЕРОЗНЫХ ОПУХОЛЯХ ЯИЧНИКОВ: СВЯЗЬ С КЛЕТОЧНЫМ И  
БЕЛКОВЫМ СОСТАВОМ АСЦИТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ**

3.3.2. Патологическая анатомия

1.5.4. Биохимия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

**Научные руководители**

доктор медицинских наук, профессор

**Вторушин Сергей Владимирович**

доктор медицинских наук, доцент

**Кайгородова Евгения Викторовна**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук

**Асатурова Александра Вячеславовна**

(Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 1-е патологоанатомическое отделение, заведующий отделением)

доктор биологических наук, профессор

**Гуляева Людмила Федоровна**

(Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», лаборатория молекулярных механизмов канцерогенеза, руководитель лаборатории)

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2026 г. в « \_\_\_\_ » часов на заседании диссертационного совета 21.2.046.05, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, ул. Залесского, д. 4; тел. 8 (383) 222-68-35; <https://new.ngmu.ru/dissers/get-file/5187>)

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

С. В. Залавина

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Рак яичников (РЯ) остаётся одним из наиболее летальных злокачественных новообразований женской репродуктивной системы. Это заболевание характеризуется высокой агрессивностью, поздней диагностикой и ограниченными возможностями эффективной терапии. Несмотря на то, что в структуре онкологической заболеваемости среди женщин в Российской Федерации РЯ занимает девятое место, он стабильно входит в тройку лидеров по уровню смертности среди гинекологических опухолей (Каприн А. Д. и др., 2024). В подавляющем большинстве случаев заболевание выявляется на III–IV стадии, когда уже формируется перитонеальный канцероматоз и асцит, что резко снижает шансы на благоприятный исход. Так, 5-летняя выживаемость на поздних стадиях не превышает 26 % (Torre L. A. et al., 2018; Siegel R. L. et al., 2024).

Согласно классификации ВОЗ (2020), серозные карциномы составляют до 80 % эпителиальных опухолей яичников, формируя наиболее клинически значимую и проблемную подгруппу. Характерным для данной формы является не только быстрое диссеминированное распространение по брюшной полости, но и образование злокачественного асцита – клеточно-внеклеточной микросреды, активно вовлечённой в опухолевую прогрессию, иммуносупрессию и развитие химиорезистентности (Rickard B. P. et al., 2021). Однако, несмотря на возрастающий интерес к асциту как к динамичному компоненту опухолевой ниши, его изучение по-прежнему фрагментарно: отсутствуют работы, в которых бы синхронно оценивались тканевые и жидкостные компоненты опухоли с учётом их фенотипической и молекулярной взаимосвязи.

Установлено, что клеточная фракция злокачественного асцита гетерогенна и включает как солитарные опухолевые клетки, так и сфероиды, стволовые популяции, гибридные формы EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> и клетки с признаками эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) (Kirps E. et al., 2013; Кайгородова Е. В. и др., 2020). При этом механизмы формирования конкретного клеточного состава асцита остаются неясными, равно как и его связь с тканевыми признаками биологической злокачественности опухоли.

Особый интерес вызывают белки теплового шока (Hsp), прежде всего Hsp27 и Hsp90 – молекулярные шапероны, регулирующие апоптоз, миграцию, ангиогенез, устойчивость к терапии и ремоделирование опухолевого микроокружения (Кайгородова Е. В., 2012; Kaigorodova E. V., Bogatyuk M. V., 2014; Yan L. R. et al., 2021; Duan C. et al., 2023). Ряд работ указывает на гиперэкспрессию Hsp27 при серозных опухолях и её связь с перитонеальным канцероматозом (Stope M. B. et al., 2017; Bodzek P. et al., 2021), а также на участие Hsp90 в стабилизации ключевых онкогенных сигнальных каскадов (Kaigorodova E. V., Ryazantseva N. V., Novitskii V. V. et al., 2011; Taha E. A., Ono K., Eguchi T., 2019). Тем не менее, большинство существующих исследований сосредоточены на изолированной оценке экспрессии этих белков в опухолевой ткани, без учёта их внеклеточной формы и без анализа их связи с асцитическими опухолевыми клетками.

Кроме того, отсутствуют данные о том, как экспрессия Hsp27 и Hsp90 влияет на формирование фенотипа опухолевых стволовых клеток, активацию ЭМП и межклеточные взаимодействия в асците, несмотря на то, что эти белки активно участвуют в указанных процессах. В то же время, Hsp27 и Hsp90 рассматриваются в современной литературе как перспективные молекулярные маркёры и потенциальные терапевтические мишени, что подчёркивает необходимость их более глубокой клинико-морфологической и функциональной характеристики (Yan L. R. et al., 2021; Duan C. et al., 2023) Однако внедрение этих маркеров в практику ограничено отсутствием интегративных подходов, объединяющих морфологические, фенотипические и биохимические параметры опухоли.

Таким образом, отсутствие комплексных исследований, включающих параллельную оценку экспрессии Hsp27 и Hsp90 в опухолевой и стромальной ткани, определение уровня внеклеточного Hsp27 в асцитической жидкости и фенотипический анализ опухолевых клеток, представляет собой существенный пробел в области молекулярной патоморфологии серозных опухолей яичников. Решение этой задачи позволит глубже понять механизмы злокачественной прогрессии и создаст основу для разработки новых диагностических, прогностических и потенциально таргетных подходов на основе сочетанной оценки тканевых и жидкостных биомаркеров.

Выявленный дефицит комплексных данных определяет актуальность настоящего исследования, направленного на изучение внутриклеточной экспрессии Hsp27 и Hsp90 в опухоли и строме, уровня внеклеточного Hsp27 в асцитической жидкости, а также их взаимосвязи с различными популяциями EpCAM-позитивных опухолевых клеток у пациенток с серозным раком яичников.

**Степень разработанности темы.** Современные исследования в области онкогинекологии и молекулярной патоморфологии значительно расширили представления о биологии серозного рака яичников. Установлено, что данная форма опухоли характеризуется высокой гетерогенностью, ранней диссеминацией, склонностью к формированию перитонеального канцероматоза и накоплению асцитической жидкости (Hatano Y. et al., 2019; Kroeger, P. T., 2017). Накопленные данные позволили охарактеризовать молекулярные подтипы, сигнальные пути и геномные нарушения, лежащие в основе агрессивного клинического течения заболевания (Lisio M. A. et al., 2019; Kroeger P. T., 2017; Kurman R. J., 2010; Motohara T. et al., 2011). Особое внимание уделяется опухолевому микроокружению и асциту как пространственно обособленному, но функционально связанному компоненту опухолевого процесса (Kim S. et al., 2016; Krügemann J. et al., 2019; Yang Y. et al., 2020).

В литературе активно обсуждается значение различных белков теплового шока (Hsp) в патогенезе злокачественных опухолей. Шапероны Hsp27 и Hsp90 участвуют в поддержании опухолевой клеточной выживаемости, регуляции сигнальных каскадов, ремоделировании цитоскелета и формировании лекарственной устойчивости (Hoter A. et al., 2019; Taipale M. et al.,

2010; Lipp A.-M. et al., 2014; Lianos G. D. et al., 2015; Lampros M. et al., 2022; Tsutsumi S. et al., 2007). Однако роль этих белков при серозных опухолях яичников, особенно в аспекте их внутриклеточной локализации и связи с клинико-морфологическими параметрами, остаётся недостаточно изученной. Отдельные исследования указывают на диагностическую и прогностическую значимость Hsp27 и Hsp 90 (Saini J. et al., 2018; Seclì L. et al., 2021), однако в большинстве случаев они не сопровождаются сопоставлением с клеточным составом асцитической жидкости и не включают оценку опухолевых субпопуляций.

На сегодняшний день в научной литературе практически отсутствуют работы, посвящённые комплексному сопоставлению экспрессии Hsp27 и Hsp90 в опухолевой ткани с характеристиками асцитических опухолевых клеток – включая фенотипы с признаками стволовости, гибридного происхождения и эпителиально-мезенхимального перехода. Также не представлено исследований, в которых бы уровень внеклеточного Hsp27 в асците рассматривался в контексте клинико-морфологических характеристик и гистологических подтипов опухоли.

Таким образом, несмотря на прогресс в изучении молекулярной онкогинекологии, тема клинико-морфологического сопоставления тканевых и асцитических маркеров злокачественного потенциала, включая Hsp27 и Hsp90, остаётся недостаточно разработанной. Это определяет актуальность и научную новизну настоящего исследования, направленного на восполнение указанного пробела и развитие подходов к молекулярно-морфологической стратификации пациенток с опухолями яичников.

**Цель исследования.** Оценить особенности внутриклеточной локализации молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90 в стромальных и опухолевых клетках при серозных карциномах и пограничных опухолях яичников, и их связь с различными популяциями опухолевых клеток и концентрацией Hsp27 в асцитической жидкости.

#### **Задачи исследования**

1. Оценить особенности внутриклеточной локализации молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90 в опухолевых и стромальных клетках при серозных карциномах и пограничных опухолях яичников.

2. Охарактеризовать различные популяции опухолевых клеток в асцитической жидкости при серозных карциномах и пограничных опухолях яичников, включая клетки с признаками стволовости, эпителиально-мезенхимального перехода и атипичные (гибридные) формы.

3. Проанализировать взаимосвязь между экспрессией шаперонов Hsp27 и Hsp90 в ткани первичной опухоли и концентрацией Hsp27 в асцитической жидкости у больных серозными опухолями яичников.

4. Изучить взаимосвязь клинико-морфологических характеристик серозных карцином яичников с различными популяциями EpCAM-положительных опухолевых клеток и

уровнем Hsp27 в асцитической жидкости.

5. Оценить особенности экспрессии и локализации молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90 в опухолевых и стромальных элементах в зависимости от степени злокачественности и распространённости опухолевого процесса у больных серозными опухолями яичника.

**Научная новизна.** Впервые проведён комплексный клинико-морфологический анализ экспрессии молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90 в опухолевом и стромальном компонентах при серозных карциномах и пограничных опухолях яичников с учётом степени злокачественности и распространённости опухолевого процесса.

Впервые установлено, что уровень экспрессии Hsp27 достоверно превышает экспрессию Hsp90 как в опухолевых клетках, так и в клетках опухолевой стромы при серозном раке яичников, при этом экспрессия Hsp27 увеличивается по мере прогрессии заболевания, включая её ядерную локализацию, что отражает клинико-морфологические характеристики злокачественности опухоли.

Впервые охарактеризован фенотипический состав опухолевых клеток в асцитической жидкости у пациенток с серозными и пограничными опухолями яичников, включая EpCAM-позитивные популяции с признаками стволовости, гибридного фенотипа (EpCAM<sup>+</sup> CD45<sup>+</sup>), а также с признаками эпителиально-мезенхимального перехода. Установлено, что указанные популяции достоверно преобладают при серозных карциномах по сравнению с пограничными опухолями.

Впервые показано, что концентрация внеклеточного Hsp27 в асцитической жидкости у больных серозным раком яичников значительно превышает уровень данного маркера при пограничных опухолях, и положительно ассоциирована с численностью опухолевых клеток с агрессивными и пластичными фенотипами, в том числе гибридных EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> и EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>CD44<sup>-</sup> клеток.

Обоснована прогностическая значимость Hsp27 как маркера, отражающего клинико-морфологическую стадию опухолевого процесса и степень выраженности эпителиально-мезенхимальной трансформации опухолевых клеток. Показано, что экспрессия Hsp27 и его концентрация в асците являются взаимодополняющими характеристиками злокачественного фенотипа серозных опухолей яичников.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Результаты проведённого исследования углубляют теоретические представления о молекулярных механизмах прогрессии серозных опухолей яичников, демонстрируя значимую роль молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90 в формировании клинико-морфологических признаков злокачественности. Показано, что уровень экспрессии Hsp27 в опухолевом и стромальном компонентах, а также его внеклеточная концентрация в асцитической жидкости отражают степень агрессивности опухолевого процесса и связаны с представлением специфических фенотипов опухолевых клеток, включая стволовые, гибридные и клетки с признаками эпителиально-мезенхимального перехода.

Работа раскрывает взаимодействие между тканевыми и жидкостными компонентами опухолевой экосистемы и обосновывает значение Hsp27 как возможного маркера межклеточной коммуникации между первичной опухолью, опухолевыми стволовыми клетками и компонентами микроокружения. Полученные данные вносят вклад в развитие концепции клеточной гетерогенности и пластичности опухолевых клеток при серьезных новообразованиях яичников.

Практическая значимость исследования заключается в возможности использования экспрессии Hsp27 и Hsp90 в тканях опухоли для уточнения морфологической характеристики степени злокачественности и распространённости процесса. Концентрация Hsp27 в асцитической жидкости может служить дополнительным диагностическим и прогностическим маркером, позволяющим оценивать биологическое поведение опухоли и стратифицировать пациенток по риску неблагоприятного течения. Характеристика фенотипов опухолевых клеток асцитической жидкости, включая EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> и стволовые формы, имеет перспективу практического применения в рамках индивидуализированного подхода к выбору тактики лечения и мониторинга эффективности терапии.

**Методология и методы исследования.** Методологический фундамент настоящего диссертационного исследования базируется на современных клинико-морфологических концепциях, отражающих молекулярные особенности серьезных карцином и пограничных опухолей яичников, а также на представлениях о роли шаперонных белков и клеточной гетерогенности в прогрессии опухолевого процесса. Исследование интегрирует подходы классической патологической анатомии с возможностями иммуногистохимического, цитометрического и биохимического анализа опухолевой ткани и асцитической жидкости.

Работа выполнена поэтапно. На первом этапе осуществлялся отбор клинического материала, включающего опухолевую ткань и асцитическую жидкость у пациенток с серьезными и пограничными опухолями яичников до начала специфической терапии. Выполнялась стандартная морфологическая верификация диагноза на гистологических препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, с определением степени злокачественности, стадии опухолевого процесса и оценки морфологических признаков.

На втором этапе проводилось иммуногистохимическое исследование экспрессии шаперонов Hsp27 и Hsp90 в опухолевом и стромальном компонентах с использованием автоматизированной системы окрашивания (BOND RX, Leica) и валидированных антител. Анализ включал оценку доли позитивных клеток, характер внутриклеточной локализации белков (цитоплазма/ядро) и их связь с клинико-морфологическими характеристиками.

На третьем этапе выполнялось многоцветное проточно-цитометрическое исследование клеточного состава асцитической жидкости с использованием панели маркеров EpCAM, CD45, CD44, CD24, CD133 и N-cadherin, с целью идентификации различных фенотипов опухолевых клеток, включая стволовые, гибридные и клетки с признаками эпителиально-мезенхимального

перехода.

На заключительном этапе определялась концентрация внеклеточного Hsp27 в асцитической жидкости методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с последующим сопоставлением полученных значений с тканевыми и клеточными параметрами.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием непараметрических методов, включающих анализ межгрупповых различий и корреляционных связей между количественными и категориальными признаками. Уровень статистической значимости принимался равным  $p < 0,05$ . Результаты представлены в виде медиан и интерквартильных размахов.

Дизайн исследования разработан в соответствии с принципами добровольности, анонимности и биоэтической корректности. Работа выполнена с соблюдением этических стандартов и одобрена локальным этическим комитетом.

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

1. Уровень экспрессии молекулярного шаперона Hsp27 в опухолевом и стромальном компонентах серозного рака яичников превышает экспрессию Hsp90 и коррелирует с прогрессированием заболевания, что указывает на его участие в формировании клинико-морфологических признаков злокачественности опухоли.

2. Асцитическая жидкость при серозных карциномах яичников характеризуется более высоким содержанием EpCAM-позитивных опухолевых клеток со стволовыми свойствами и гибридным фенотипом по сравнению с пограничными опухолями; концентрация внеклеточного Hsp27 в асците положительно коррелирует с численностью указанных популяций.

3. Внутритканевая экспрессия Hsp27 и концентрация Hsp27 в асцитической жидкости ассоциируются с клинико-морфологической стадией опухолевого процесса и степенью выраженности эпителиально-мезенхимального фенотипа опухолевых клеток, что определяет диагностическую и прогностическую значимость данного маркера при серозных опухолях яичников.

**Степень достоверности и обоснованности результатов.** Достоверность полученных результатов обеспечена научно обоснованной организацией исследования, применением современных валидированных методов морфологического, иммуногистохимического, цитометрического и биохимического анализа, а также использованием автоматизированных технологий, включая платформу BOND RX и многоцветную проточную цитометрию, что обеспечило воспроизводимость количественной и качественной оценки исследуемых параметров.

Исследование выполнено на сопоставимых по клинико-морфологическим характеристикам группах пациенток с серозными и пограничными опухолями яичников, при соблюдении принципов внутригрупповой однородности и достаточного объема выборки, что

позволило выявить статистически значимые различия и корреляционные взаимосвязи.

**Апробация результатов исследования.** Основные положения диссертационной работы были изложены в отчетной документации по результатам реализации гранта Президента МД-2017.2020.7 (руководитель д-р мед. наук, доц. Кайгородова Е. В.), ряд положений докладывался и обсуждался на: международной морфологической научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Морфологические науки – фундаментальная основа медицины», посвящённая 80-летию со дня рождения и 50-летию научно-педагогической деятельности заслуженного деятеля науки РФ, академика РАН, профессора В. А. Шкурпия (Новосибирск, 2020); 25-м Российском онкологическом конгрессе (Москва, 2021); 10-й Юбилейной международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика» (Москва, 2022); 37-м Европейском конгрессе патологов / European Congress of Pathology (Вена, Австрия, 2025).

Диссертационная работа апробирована на совместном заседании кафедры патологической анатомии, кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России и отделения общей и молекулярной патологии Научно-исследовательского института онкологии – филиала ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН» (Томск, 2026).

**Внедрение результатов исследования.** Результаты исследования внедрены в образовательный процесс ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, где используются при преподавании дисциплин «Патологическая анатомия», «Клиническая патологическая анатомия» и «Биохимия» в разделах, посвящённых морфологическим и молекулярным механизмам опухолевого роста и биомаркерам злокачественных новообразований. Практическое внедрение результатов исследования осуществлено в деятельности НИИ онкологии Томского НИМЦ, где они используются для совершенствования морфологической диагностики и прогностической стратификации злокачественных опухолей.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 1 патент на изобретение и 4 статьи в научных журналах и изданиях, включённых в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 3 статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus и Web of Science.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 186 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, главы результаты исследований и их обсуждение, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и

списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 290 источниками, из которых 281 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 7 таблиц и 38 рисунков.

**Личный вклад автора.** Автором сформулированы цель и задачи исследования, разработан дизайн работы, выполнен подбор клинического материала и морфологическая верификация опухолей. Самостоятельно проведены анализ гистологических препаратов и оценка экспрессии шаперонов Hsp27 и Hsp90 методом иммуногистохимии. Автор принимал участие в проведении проточной цитометрии асцитической жидкости, анализе и интерпретации полученных данных. Выполнена статистическая обработка результатов, подготовлены таблицы и графические материалы. Автором написаны все разделы диссертации, подготовлены публикации по теме исследования и представлены доклады на научных конференциях.

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Материал исследования.** В проспективное клиническое исследование NCT04817501 включены 58 пациенток с впервые выявленными новообразованиями яичников (средний возраст  $(53,4 \pm 8,1)$  года), проходивших лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ и в Томском областном онкологическом диспансере в 2017–2024 гг. У 49 пациенток диагностирован серозный рак яичников (СРЯ), включая карциномы высокой (СРЯВС3) и низкой (СРЯНС3) степени злокачественности. У 9 пациенток выявлены серозные пограничные опухоли яичников (СПОЯ), в 4 случаях – с перитонеальными имплантатами. Все диагнозы подтверждены гистологически и при необходимости иммуногистохимически.

Критерии включения: возраст 21–80 лет, информированное согласие, морфологически подтверждённые СРЯВС3, СРЯНС3 или СПОЯ, стадии T1–4N0–3M0 (TNM, 8-е изд.) без гематогенных метастазов, возможность получения асцитической жидкости до начала лечения, достаточный объём операционного материала, функциональный статус ECOG 0–2. Критерии исключения: возраст < 21 или > 80 лет, несерозные опухоли яичников, отдалённые метастазы, беременность, тяжёлая сопутствующая патология, предшествующее специфическое лечение опухолей малого таза.

Исследуемый материал включал парафиновые блоки опухолевой ткани, асцитическую жидкость и сыворотку крови, полученные до начала лечения на этапе лапароскопического стадирования. Экспрессия Hsp27 и Hsp90 оценивалась иммуногистохимически, концентрация Hsp27 – методом ИФА, состав опухолевых клеток асцита – методом многоцветной проточной цитометрии.

Тактика лечения определялась действующими клиническими рекомендациями Минздрава РФ. При СРЯВС3 выполнялась полная или оптимальная циторедукция; при необходимости проводилась неоадьювантная химиотерапия на основе платиносодержащих режимов с последующей интервальной циторедукцией и адьювантной терапией. При СРЯНС3 хирургическое лечение применялось аналогично; химиотерапия назначалась при стадиях  $\geq$  IC2

или наличия факторов высокого риска.

Для оценки распространённости канцероматоза применялся лапароскопический индекс PIV (Predictive Index Value, Fagotti score). Оценка проводилась в шести анатомических областях брюшной полости. Каждая зона оценивалась в 0 или 2 балла; суммарный показатель варьировал от 0 до 14. Значение  $\geq 8$  указывало на низкую вероятность выполнения полной циторедукции и служило основанием для выбора неoadъювантной химиотерапии.

Схема дизайна исследования представлена на Рисунке 1.

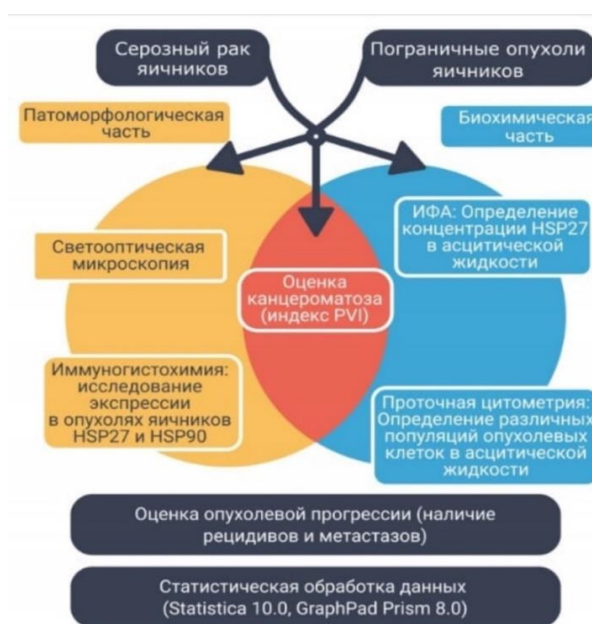


Рисунок 1 – Схема дизайна исследования: последовательность этапов сбора материала и проведения анализов

**Методы исследования.** *Гистологическое исследование.* Гистологическое исследование проводилось на биопсийном и операционном материале, полученном до начала лечения. Фиксация выполнялась в 10 % нейтральном формалине с последующей автоматической проводкой (ASP6025, Leica). Парафиновые срезы толщиной 4 мкм окрашивались гематоксилином и эозином на автоматической станции Varistain™ Gemini. Микроскопическое исследование проводилось на микроскопе Scope.A1 (ZEISS), цифровая верификация – на сканере Aperio AT2. Морфологическая диагностика выполнялась согласно классификации ВОЗ опухолей женской репродуктивной системы (WHO, 2020). Оценивались архитектурные паттерны роста, ядерная атипия, митотическая активность, характер стромы, воспалительная инфильтрация, наличие некрозов, псаммомных телец и лимфоваскулярной инвазии.

*Иммуногистохимическое исследование.* Экспрессия Hsp27 и Hsp90 оценивалась методом непрямой иммуногистохимии на автоматическом стейнере Bond RX (Leica). Использовались антитела anti-Hsp27 (клон G3.1) и anti-Hsp90 (клон AC88). Визуализация выполнялась системой Bond Polymer Refine Detection с хромогеном DAB. Оценка экспрессии проводилась в

опухолевых и стромальных клетках визуально (подсчёт доли позитивных клеток) и методом цифрового анализа.

*Цифровой морфометрический анализ.* Количественная оценка экспрессии выполнялась с использованием программы QuPath 0.5.0 на основе сканированных изображений препаратов. Проводилась сегментация опухолевых и стромальных зон, автоматическое распознавание клеток и определение доли позитивных клеток, интенсивности окрашивания и субклеточной локализации белков.

*Проточная цитометрия.* Популяции опухолевых клеток в асцитической жидкости анализировались методом многоцветной проточной цитометрии на приборе BD FACSCanto с использованием антител к CD45, EpCAM, CD44, CD24, N-cadherin и CD133. Определялись популяции опухолевых клеток со свойствами стволовости, признаками эпителиально-мезенхимального перехода и гибридным фенотипом.

Для визуализации клеток применялась проточная цитометрия высокого разрешения на приборе Amnis ImageStream Mk II с анализом изображений в программе IDEAS.

*Определение концентрации Hsp27.* Концентрация Hsp27 в асцитической жидкости определялась методом «сэндвич»-ИФА с использованием набора Human Hsp27 ELISA Kit (Abcam). Оптическая плотность измерялась на спектрофотометре Multiscan FC при длине волны 450 нм. Результаты выражались в нг/мл.

*Статистическая обработка данных.* Статистический анализ проводился с использованием программ Microsoft Excel 2017, GraphPad Prism 10, StatTech и STATISTICA 7.0. Нормальность распределения оценивали тестами Шапиро–Уилка и Лиллиефорса. Поскольку часть показателей имела ненормальное распределение, применялись непараметрические методы: критерии Манна–Уитни и Вилкоксона. Для оценки взаимосвязей использовался коэффициент корреляции Спирмена. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Особенности внутриклеточной локализации молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90 в стромальных и опухолевых клетках при серозных карциномах и пограничных опухолях.** На первом этапе исследования была проведена оценка особенностей экспрессии и внутриклеточной локализации молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90 в опухолевых и стромальных компонентах серозных карцином яичников и пограничных опухолей.

В результате проведённого исследования установлено, что в опухолевых клетках серозного рака яичников наблюдается различный характер экспрессии молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90. При светооптическом анализе иммуногистохимически окрашенных препаратов цитоплазматическая экспрессия белка Hsp27 регистрировалась в 95 (87,5–100) % опухолевых клеток, что статистически значимо превышало долю Hsp90-позитивных клеток ( $p = 0,0006$ , критерий Вилкоксона) (Рисунок 2).

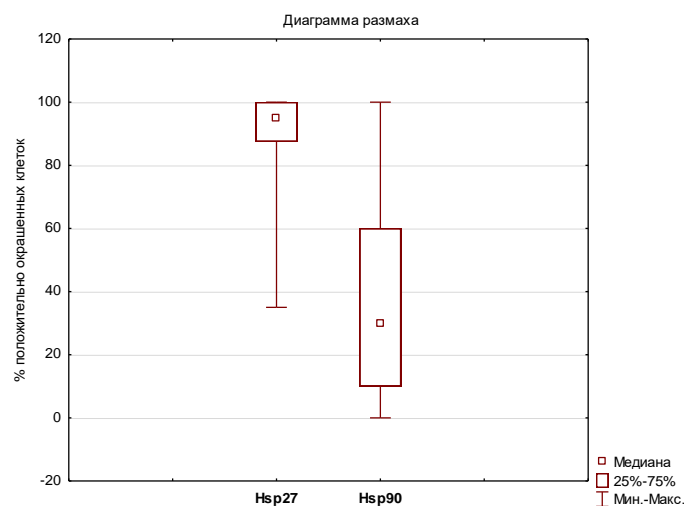


Рисунок 2 – Количество Hsp27- и Hsp90-положительных опухолевых клеток в ткани серозной карциномы яичников

На Рисунке 3 представлены микрофотографии иммуногистохимического окрашивания белков Hsp27 (Рисунок 3А) и Hsp90 (Рисунок 3Б) в ткани серозной карциномы яичников.

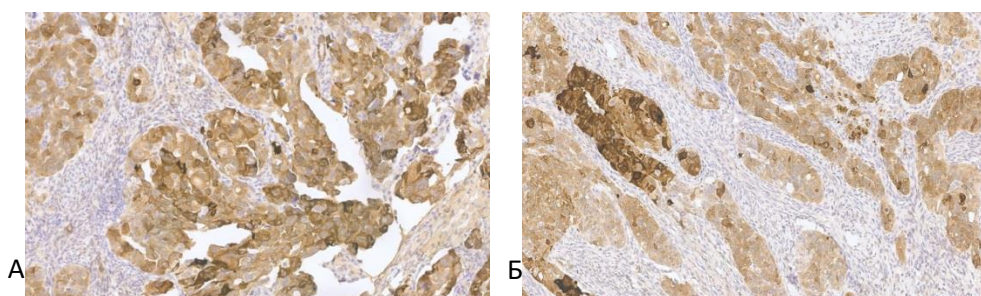


Рисунок 3 – Иммуногистохимическое окрашивание молекулярных шаперонов в ткани серозной карциномы яичника высокой степени злокачественности (high-grade): А – экспрессия Hsp27; Б – экспрессия Hsp90. Окраска: DAB, контрастирование гематоксилином. Увеличение  $\times 200$

Корреляционный анализ выявил сильную положительную взаимосвязь между числом Hsp27- и Hsp90-позитивных опухолевых клеток при серозной карциноме яичников ( $R$  Спирмена = +0,79;  $p = 0,00023$ ), что свидетельствует о сопряжённой экспрессии данных шаперонов в опухолевом компартменте.

Количественная оценка внутриклеточной экспрессии с использованием программного обеспечения QuPath-0.5.0 показала, что уровень Hsp27 в опухолевых клетках в 4,47 раза превышает его содержание в строме ( $p < 0,0001$ ), тогда как экспрессия Hsp90 в опухоли оказалась в 30,67 раза выше, чем в строме ( $p < 0,0001$ ).

Аналогичные закономерности выявлены при анализе внутриклеточной локализации белков. В цитоплазме опухолевых клеток содержание Hsp27 превышало стромальный уровень в 10,48 раза ( $p < 0,0001$ ), а Hsp90 – в 40,42 раза ( $p < 0,0001$ ). В ядрах опухолевых клеток

экспрессия Hsp27 была выше в 7,41 раза, а Hsp90 – в 86,67 раза по сравнению со стромой ( $p < 0,0001$ ).

Установлено, что при анализе суммарной экспрессии (без учёта субклеточной локализации) уровень Hsp27 в строме в 56,8 раза превышал экспрессию Hsp90 ( $p < 0,05$ ), тогда как в опухолевой ткани Hsp27 экспрессировался в 9,2 раза чаще, чем Hsp90 ( $p < 0,05$ ).

Сходные закономерности выявлены при анализе отдельных клеточных компартментов. В цитоплазме содержание Hsp27 превышало уровень Hsp90 в 32,96 раза в строме и в 8,5 раза в опухолевых клетках ( $p < 0,05$ ). В ядрах клеток экспрессия Hsp27 была выше, чем Hsp90, в 136,7 раза в строме и в 11,8 раза в опухоли ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, при серозном раке яичников экспрессия Hsp27 значительно превышает экспрессию Hsp90 как в опухолевой ткани, так и в строме. При этом в опухолевых клетках преобладает цитоплазматическая экспрессия обоих шаперонов.

Сравнительный анализ показал, что при серозных пограничных опухолях яичников количество Hsp-позитивных клеток достоверно ниже, чем при серозной карциноме: уровень Hsp27-положительных опухолевых клеток был в 7,1 раза ниже, а Hsp90-положительных – в 4,3 раза ниже ( $p < 0,0001$  и  $p = 0,0018$  соответственно, Рисунок 4).

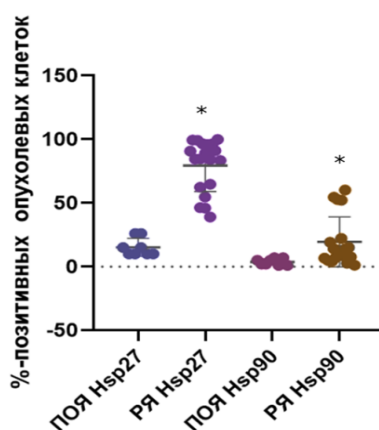


Рисунок 4 – Количество Hsp-позитивных опухолевых клеток при пограничных опухолях яичников (ПОЯ) и раке яичников (РЯ)

**Различные популяции опухолевых клеток (с признаком стволовости, с признаком эпителиально-мезенхимального перехода, атипичных/гибридных форм) в асцитической жидкости при серозных карциномах и пограничных опухолях яичников.** На следующем этапе исследования проведена фенотипическая характеристика опухолевых клеток, циркулирующих в асцитической жидкости, у пациенток с серозным раком яичников и пограничными опухолями яичников. С этой целью применялись методы многоцветной проточной цитометрии, включая проточную цитометрию с визуализацией, что позволило оценить гетерогенность опухолевой популяции.

Установлено значительное разнообразие фенотипов опухолевых клеток в асцитической жидкости, включая клетки с признаками стволовости (CD44<sup>+</sup>, CD133<sup>+</sup>, CD24<sup>+</sup>), эпителиально-мезенхимального перехода (N-cadherin<sup>+</sup>), а также гибридные формы, коэкспрессирующие эпителиальные и лейкоцитарные маркеры (EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>). Количественные характеристики различных клеточных популяций в асцитической жидкости у пациенток с ПОЯ и РЯ представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Концентрации различных популяций опухолевых клеток в асцитической жидкости (клеток/мм<sup>3</sup>) в группах больных с пограничными опухолями и раком яичников (Ме (Q1–Q3))

Фенотип клеток, клеток/мм <sup>3</sup>	Группа ПОЯ	Группа РЯ	p (критерий Манна – Уитни)
CD45-EpCam+	0,00 (0,00–0,025)	2,750 (0,235–69,380)	p = 0,0001
CD45-EpCam+CD44–	0,00 (0,00–0,005)	2,200 (0,002–37,570)	p = 0,0041
CD45-EpCam+CD44-CD24+	0,00 (0,00–0,00)	0,190 (0,00–7,010)	p = 0,0132
CD45-EpCam+CD44-CD24– Ncadherin+	0,00 (0,00–0,00)	0,034 (0,00–0,280)	p = 0,017
CD45-EpCam+CD133+	0,00 (0,00–0,00)	0,070 (0,025–2,040)	p = 0,051
CD45-EpCam+CD44+	0,00 (0,00–0,00)	0,920 (0,180–17,80)	p = 0,033
CD45-Epс+CD44+CD24– Ncadherin+	0,00 (0,00–0,00)	0,020 (0,00–0,160)	p = 0,132
Атипичные/гибридные CD45+EpCam+	0,00 (0,00–0,295)	23,405 (1,580–59,505)	p = 0,0001
Атипичные/гибридные CD45+EpCam+CD44+	0,080 (0,00–0,160)	18,280 (1,140–49,200)	p = 0,014
Атипичные/гибридные CD45+EpCam+CD133+	0,040 (0,00–0,080)	17,065 (0,755–46,800)	p = 0,026

Показано, что при серозных карциномах яичников концентрация опухолевых клеток в асцитической жидкости, как обладающих признаками стволовости, так и не обладающих ими, статистически значимо выше по сравнению с пограничными опухолями. Наиболее выраженные различия выявлены для атипичных/гибридных клеток EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>, а также их субпопуляций с признаками стволовости (CD44<sup>+</sup>, CD133<sup>+</sup>) (см. Таблицу 1).

На Рисунке 5 представлены визуальные данные, иллюстрирующие методологию исследования и морфологические особенности различных EpCAM-положительных клеток в асцитической жидкости, включая гибридные формы с коэкспрессией эпителиальных и гемопоэтических маркеров.

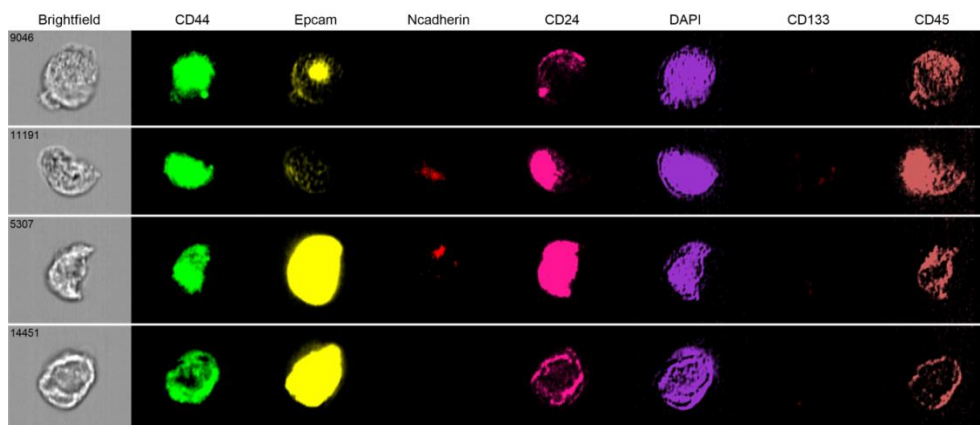


Рисунок 5 – Микрофотографии различных популяций EpCAM-положительных клеток в асцитической жидкости у пациентки с серозным раком яичников, полученные с использованием проточной цитометрии с визуализацией на аппарате ImageStreamX (Amnis).

Таким образом, в асцитической жидкости у пациенток с опухолями яичников выявлены атипичные/гибридные формы, клетки с признаками стволовости, эпителиально-мезенхимального перехода, а также клетки с сочетанием этих признаков. Наряду с опухолевыми элементами идентифицированы стромальные и иммунные клеточные популяции. Выявление таких субпопуляций может иметь практическое значение при оценке прогноза и прогнозировании ответа на химиотерапию.

Полученные результаты согласуются с литературными данными о значении маркеров CD44, CD24 и EpCAM как признаков опухолевой агрессивности, туморогенности, инвазивности и лекарственной устойчивости (Wei X. et al., 2010; Gao M. Q. et al., 2010; Burgos-Ojeda D. et al., 2012; Burgos-Ojeda D., Wu R., McLean K. et al., 2015). Особый интерес представляют гибридные опухолевые клетки, роль которых в канцерогенезе активно изучается (Ramakrishnan M. et al., 2013; Gast C. E. et al., 2018; Кайгородова Е. В., Очиров М. О., Федулова Н. В., 2019; Kaigorodova E. V. et al., 2022; Кайгородова Е. В., Грищенко М. Ю., 2025; Caruso G. et al., 2025).

Полученные приоритетные данные, показывающие значительно более высокие концентрации атипичных/гибридных EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> клеток в асцитической жидкости у больных серозным раком яичников по сравнению с больными ПОЯ ( $p = 0,0001$ ), наличие прямой корреляционной связи средней силы между концентрацией этих клеток и стадией опухолевого процесса ( $R = 0,679$ ;  $p = 0,001$ ), а также прямой сильной корреляционной связи с индексом канцероматоза PIV ( $R = 0,74$ ;  $p = 0,0006$ ), позволили разработать способ прогнозирования риска опухолевой прогрессии у больных раком яичников (патент RU 2816339 C1 от 28.03.2024 ; заявка № 2023120150 от 31.07.2023).

Таким образом, полученные данные демонстрируют высокую гетерогенность опухолевых клеток в асцитической жидкости у пациенток с серозным раком яичников. Обнаружение атипичных/гибридных EpCAM<sup>+</sup>-клеток, включая популяции с признаками стволовости и ЭМП, подтверждает наличие фенотипически пластичной субпопуляции,

потенциально ответственной за прогрессию, метастазирование и химиорезистентность.

**Взаимосвязь особенностей презентации молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90 в ткани первичной опухоли с концентрацией Hsp27 в асцитической жидкости у больных серозными опухолями яичников.** На следующем этапе исследования проведена сравнительная оценка экспрессии молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90 в ткани первичной опухоли и её строме у пациенток с серозными опухолями яичников, дифференцированных по степени злокачественности.

Показано, что уровень экспрессии Hsp27 и Hsp90 в строме серозной карциномы яичников высокой и низкой степени злокачественности не имел статистически значимых различий (Рисунки 6 и 7).

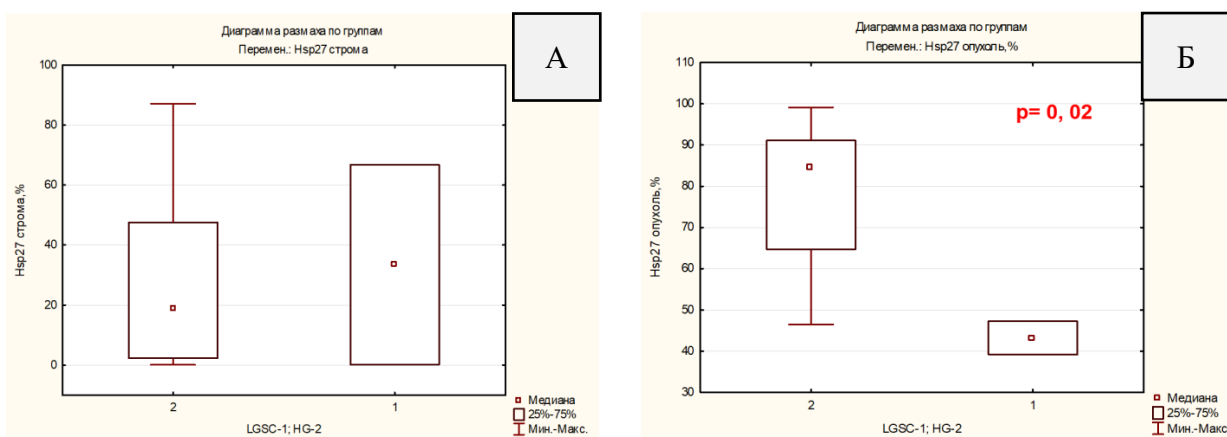


Рисунок 6 – Уровень экспрессии Hsp27 у больных серозной карциномой яичников низкой (1) и высокой (2) степени злокачественности: А – в стромальных элементах; Б – в опухолевых клетках

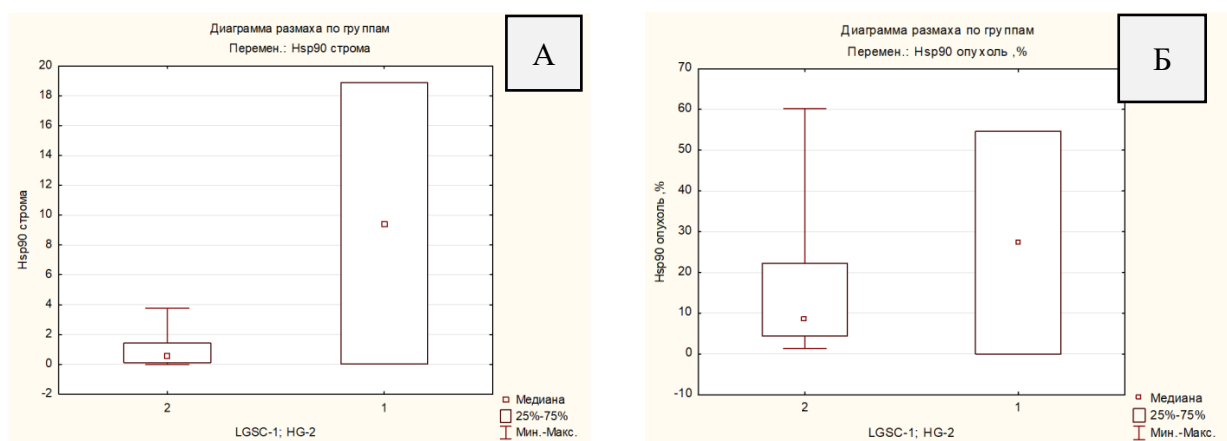


Рисунок 7 – Экспрессия Hsp90 у больных серозной карциномой яичников низкой (1) и высокой (2) степени злокачественности: А – в строме; Б – в опухолевом компоненте

В то же время в опухолевом компоненте выявлены достоверные различия между HG- и LG-группами: экспрессия Hsp27 как в цитоплазме, так и в ядрах опухолевых клеток была

статистически выше при опухолях высокой степени злокачественности ( $p < 0,05$ ). В то же время в опухолевом компоненте выявлены достоверные различия между HG- и LG-группами: экспрессия Hsp27 как в цитоплазме, так и в ядрах опухолевых клеток оказалась статистически выше у пациенток с опухолями высокой степени злокачественности (Рисунки 6(Б) и 8).

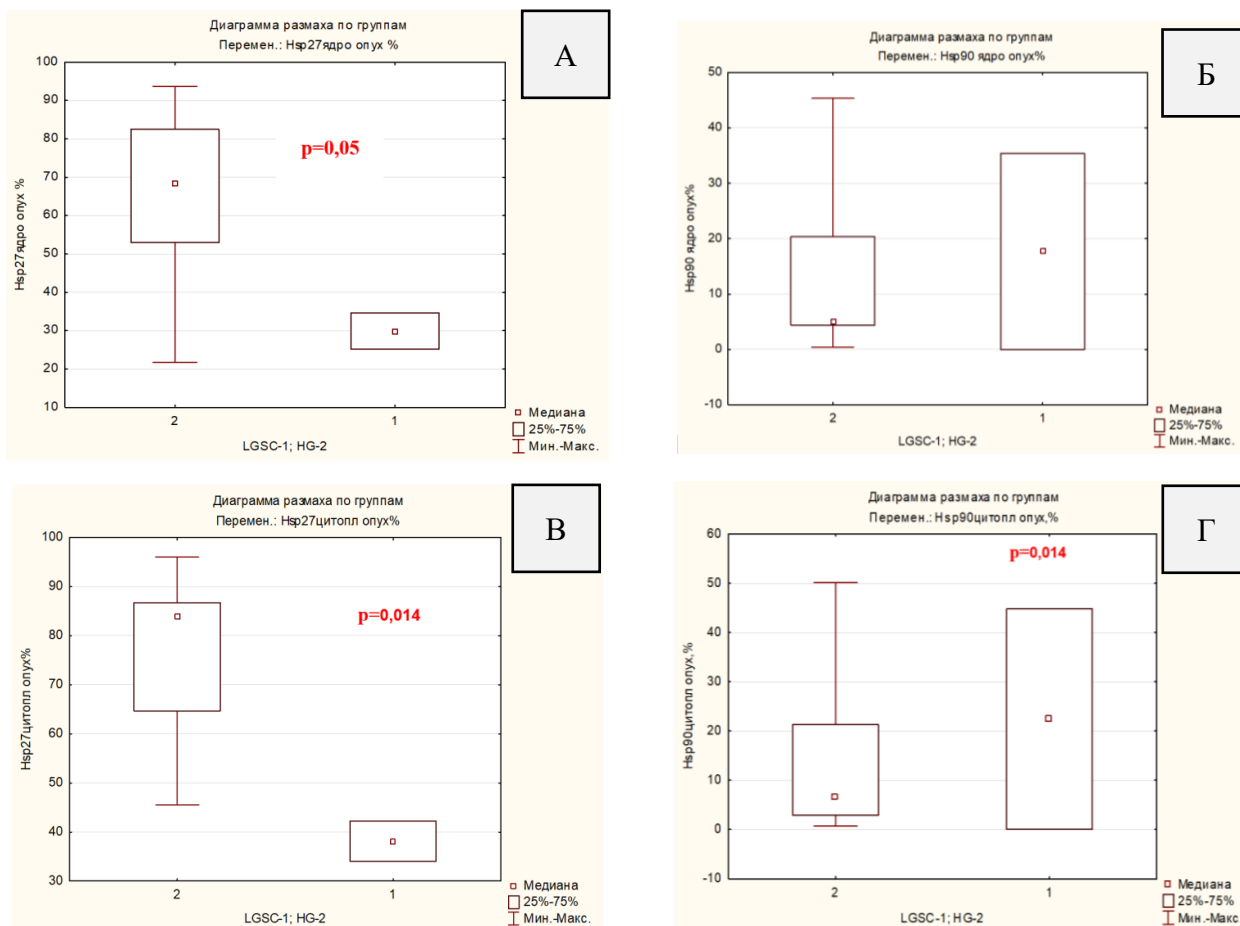


Рисунок 8 – Особенности внутриклеточной экспрессии Hsp27 и Hsp90 в опухолевых клетках серозной карциномы яичников низкой (1) и высокой (2) степени злокачественности: А – количество опухолевых клеток с ядерной экспрессией Hsp27; Б – с ядерной экспрессией Hsp90; В – с цитоплазматической экспрессией Hsp27; Г – с цитоплазматической экспрессией Hsp90

Таким образом, различия в экспрессии Hsp27 между серозными опухолями низкой и высокой степени злокачественности локализуются преимущественно в опухолевом компартменте. Стромальный компонент достоверной вариабельности не продемонстрировал, что подчёркивает специфичность данного маркера для опухолевых клеток при высокозлокачественных формах СРЯ.

В отличие от Hsp27, экспрессия Hsp90 не показала значимых различий между группами опухолей различной степени злокачественности ни в строме, ни в опухоли.

По данным ИФА, концентрация Hsp27 в асцитической жидкости у пациенток с серозной карциномой яичников низкой степени злокачественности составила 13,09 нг/мл (9,88–49,95), а

при опухолях высокой степени злокачественности – 71,98 нг/мл (33,36–79,20), однако различие не достигло статистической значимости ( $p = 0,18$ ).

При сравнительном анализе асцитической жидкости у пациенток с серозной карциномой и пограничными опухолями выявлено достоверное повышение уровня Hsp27 в группе карцином ( $p = 0,044$ ). Концентрация Hsp27 при СРЯ превышала аналогичный показатель при ПОЯ в 6,2 раза (Рисунок 9).

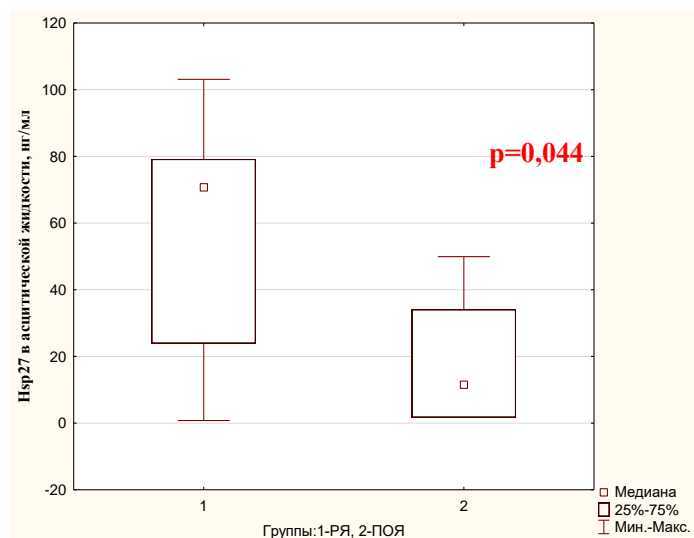


Рисунок 9 – Концентрация Hsp27 (нг/мл) в асцитической жидкости у больных с серозной карциномой яичников (1) и пограничными опухолями яичников (2)

Корреляционный анализ показал отсутствие статистически значимой связи между количеством Hsp27- и Hsp90-позитивных опухолевых клеток и уровнем Hsp27 в асцитической жидкости. Однако при анализе стромального компонента выявлена достоверная прямая корреляционная связь высокой силы между числом Hsp90-положительных клеток в строме серозной карциномы яичников и концентрацией Hsp27 в асците ( $R = 0,90$ ;  $p = 0,037$ ).

Таким образом, экспрессия Hsp27 в опухолевых клетках серозной карциномы яичников достоверно выше при высокой степени злокачественности по сравнению с опухолями низкой степени, причём эта закономерность проявляется как в цитоплазматической, так и в ядерной локализации белка. Уровень экспрессии Hsp90 не продемонстрировал статистически значимых различий между группами. Концентрация Hsp27 в асцитической жидкости была выше при НГ-СРЯ по сравнению с LG-СРЯ, однако без статистической значимости, тогда как при сравнении СРЯ и ПОЯ выявлено достоверное повышение уровня Hsp27 у пациенток с карциномой.

Выявленная сильная положительная корреляция между количеством Hsp90-позитивных клеток в строме и концентрацией Hsp27 в асцитической жидкости указывает на вероятное участие стромальных элементов в регуляции секреции Hsp27 в асцит. Полученные данные подчёркивают необходимость комплексного подхода к интерпретации экспрессии шаперонов с учётом не только их тканевой локализации, но и биохимических параметров опухолевой

микросреды.

**Взаимосвязь клинико-морфологических параметров серозных карцином яичников с различными популяциями EpCAM-положительных опухолевых клеток и концентрацией Hsp27 в асцитической жидкости.** Проведён анализ взаимосвязи клинико-морфологических характеристик серозного рака яичников с фенотипическим составом опухолевых клеток в асцитической жидкости. Оценивались популяции EpCAM-положительных клеток с признаками стволовости, эпителиально-мезенхимального перехода и гибридного фенотипа, а также их связь с концентрацией шаперона Hsp27.

Установлено, что как общее количество EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> опухолевых клеток, так и число нестволовых EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>CD44<sup>-</sup> клеток достоверно связано со степенью злокачественности серозного рака яичников ( $R = 0,58$ ;  $p = 0,0036$  и  $R = 0,44$ ;  $p = 0,037$  соответственно). При высокозлокачественных опухолях содержание EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> клеток и EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>CD44<sup>-</sup> клеток в асцитической жидкости было статистически значимо выше, чем при опухолях низкой степени злокачественности ( $p = 0,0054$  и  $p = 0,045$ ).

Количество атипичных/гибридных EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> клеток также было достоверно выше при высокой степени злокачественности ( $p = 0,044$ ). Медианное значение этой популяции в асците при HG-карциноме составило 14,50 клеток/мм<sup>3</sup> (1,50–47,95), тогда как при LG-опухолях – 0,22 клеток/мм<sup>3</sup>.

Корреляционный анализ выявил значимую связь между количеством опухолевых клеток в асцитической жидкости и стадией заболевания. Наиболее высокая корреляция установлена для атипичных/гибридных EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> клеток ( $R = 0,679$ ;  $p = 0,001$ ), а также для EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>CD44<sup>+</sup> клеток ( $R = 0,652$ ;  $p = 0,004$ ). Кроме того, умеренные корреляции со стадией показали EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> клетки ( $R = 0,587$ ;  $p = 0,010$ ), EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>CD44<sup>-</sup> клетки ( $R = 0,583$ ;  $p = 0,011$ ) и EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>CD44<sup>-</sup>CD24<sup>+</sup> клетки ( $R = 0,543$ ;  $p = 0,024$ ).

Анализ взаимосвязи с индексом перитонеального канцероматоза (PIV) показал наиболее сильные корреляции для EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>CD44<sup>-</sup>CD24<sup>+</sup> клеток ( $R = 0,73$ ;  $p = 0,0014$ ), EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>CD44<sup>-</sup>CD24<sup>-</sup>N-cadherin<sup>+</sup> клеток ( $R = 0,71$ ;  $p = 0,0018$ ) и атипичных/гибридных EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> клеток ( $R = 0,74$ ;  $p = 0,00060$ ).

При анализе связи между концентрацией Hsp27 в асцитической жидкости и фенотипическим составом опухолевых клеток достоверные корреляции выявлены для нестволовых EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>CD44<sup>-</sup> клеток ( $R = 0,55$ ;  $p = 0,040$ ) и атипичных/гибридных EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> клеток ( $R = 0,65$ ;  $p = 0,0068$ ). Популяции клеток с признаками эпителиально-мезенхимального перехода демонстрировали тенденцию к прямой корреляции с уровнем Hsp27 ( $R = 0,57$ ;  $p = 0,10$  и  $R = 0,63$ ;  $p = 0,070$ ).

При этом статистически значимых различий в концентрации Hsp27 в асцитической жидкости между группами высокой и низкой степени злокачественности выявлено не было ( $p = 0,18$ ). В то же время уровень Hsp27 в сыворотке крови у больных HG-серозным раком

яичников был в 7 раз выше по сравнению с LG-опухольями, с тенденцией к статистической значимости ( $p = 0,062$ ).

Таким образом, фенотипический профиль опухолевых клеток в асцитической жидкости тесно связан с клинико-морфологическими характеристиками серозной карциномы яичников. Наиболее выраженная связь со стадией заболевания и индексом канцероматоза выявлена для гибридных  $EpCAM^+CD45^+$  клеток, что позволяет рассматривать их как потенциальный маркер прогрессии и перитонеального метастазирования. Установленная связь отдельных опухолевых субпопуляций с концентрацией Hsp27 в асците указывает на возможную роль этого шаперона в формировании агрессивного фенотипа опухоли.

**Закономерности презентации молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90 в стромальных и опухолевых элементах при опухолевой прогрессии рака яичников.** На заключительном этапе исследования проанализирована взаимосвязь экспрессии молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90 в опухолевых и стромальных клетках со стадией серозного рака яичников.

Установлено, что процент Hsp27-позитивных опухолевых клеток достоверно коррелирует со стадией заболевания. Выявлена прямая корреляционная связь умеренной силы между количеством Hsp27<sup>+</sup> опухолевых клеток и стадией серозного рака яичников ( $R = 0,49$ ;  $p = 0,021$ ). По мере увеличения стадии заболевания возрастает доля опухолевых клеток, экспрессирующих Hsp27 (Рисунок 10). Это может свидетельствовать о вовлечённости Hsp27 в механизмы, способствующие прогрессии опухоли и её распространению по брюшной полости.

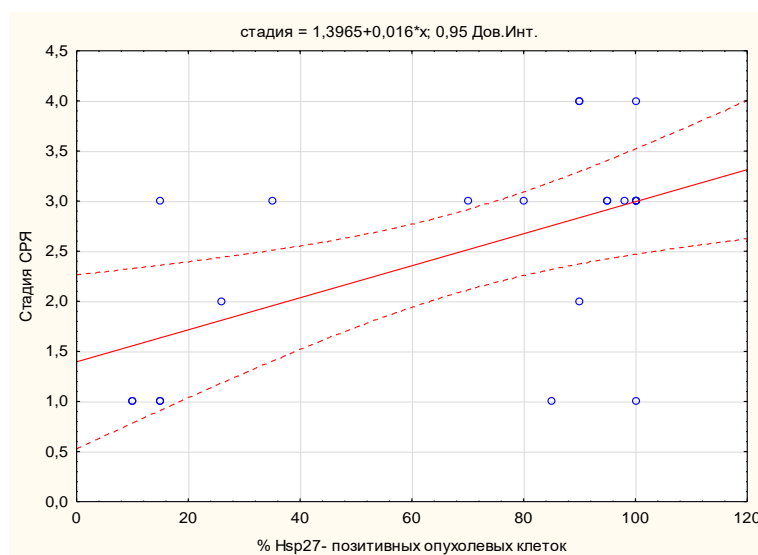


Рисунок 10 – Скаттерплот, отражающий взаимосвязь между стадией опухолевого процесса и процентом Hsp27-позитивных опухолевых клеток в ткани серозного рака яичников

Анализ экспрессии Hsp27 в стромальных элементах опухоли статистически значимой связи со стадией заболевания не выявил.

При исследовании экспрессии Hsp90 аналогичная закономерность наблюдалась для стромального компонента – достоверной взаимосвязи со стадией опухоли не установлено. Вместе с тем выявлена тенденция к увеличению числа опухолевых клеток с ядерной экспрессией Hsp90 по мере прогрессии заболевания. Корреляционный анализ показал прямую связь умеренной силы между количеством опухолевых клеток с ядерной экспрессией Hsp90 и стадией серозного рака яичников ( $R = 0,39$ ;  $p = 0,079$ ), носившую характер статистической тенденции.

Таким образом, экспрессия Hsp27 в опухолевых клетках достоверно ассоциирована со стадией серозного рака яичников и возрастает по мере прогрессии заболевания, что позволяет рассматривать данный шаперон как потенциальный маркер агрессивного течения опухолевого процесса. В то же время экспрессия Hsp27 и Hsp90 в строме не отражает степень распространённости опухолевого процесса. Тенденция к увеличению ядерной экспрессии Hsp90 в опухолевых клетках при прогрессии заболевания может свидетельствовать о его участии в регуляции молекулярных механизмов опухолевой прогрессии.

### ВЫВОДЫ

1. При серозном раке яичников установлена более высокая экспрессия молекулярного шаперона Hsp27 по сравнению с Hsp90 как в опухолевых клетках, так и в строме. В группе пограничных опухолей яичников количество Hsp27-положительных опухолевых клеток составило 7,4 % (IQR 4,3–9,6 %), Hsp90-положительных – 3,3 % (IQR 2,5–5,1 %); при серозном раке – соответственно 41,2 % (IQR 30,8–58,6 %;  $p < 0,0001$ ) и 10,4 % (IQR 6,7–14,9 %;  $p = 0,0018$ ). В строме при раке медиана Hsp27-позитивных клеток составила 20,1 % (IQR 16,8–28,3 %) против 7,8 % (IQR 5,6–9,1 %;  $p < 0,0001$ ).

2. У пациенток с серозным раком яичников высокой степени злокачественности экспрессия Hsp27 в опухолевой ткани достоверно выше, чем при карциномах низкой степени злокачественности: в цитоплазме – 52,8 % (IQR 43,7–66,1 %) против 34,1 % (IQR 27,0–38,4 %;  $p = 0,02$ ), в ядрах – 21,5 % против 11,3 %. Выявлена положительная корреляция между уровнем экспрессии Hsp27 и стадией заболевания ( $R = 0,49$ ;  $p = 0,020$ ).

3. У больных серозным раком яичников в асцитической жидкости выявлено повышение общего количества опухолевых клеток с фенотипом EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> по сравнению с пограничными опухолями: медиана 18,7 % (IQR 12,4–28,1 %) против 3,2 % (IQR 1,4–6,5 %;  $p < 0,001$ ).

4. В асцитической жидкости у больных серозным раком яичников по сравнению с пограничными опухолями достоверно увеличено количество опухолевых клеток с признаками стволовости, а также гибридных форм EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>: медиана 3,4 % (IQR 2,0–6,2 %) против 0,5 % (IQR 0,2–1,2 %;  $p < 0,001$ ). Также выявлены гибридные опухолевые клетки с признаками стволовости (CD44, CD133) ( $p < 0,001$ ).

5. Концентрация Hsp27 в асцитической жидкости у больных серозной карциномой

яичников составила 7,62 нг/мл (IQR 5,74–10,45), что в 6,2 раза выше, чем у пациенток с пограничными опухолями – 1,23 нг/мл (IQR 0,84–1,91;  $p = 0,044$ ).

6. Установлена положительная корреляция между концентрацией Hsp27 в асцитической жидкости и количеством опухолевых клеток фенотипа EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>CD44<sup>-</sup> ( $R = 0,55$ ;  $p = 0,040$ ), а также EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> ( $R = 0,65$ ;  $p = 0,0068$ ). Популяции опухолевых клеток с признаками эпителиально-мезенхимального перехода также демонстрировали положительные корреляции с концентрацией Hsp27 на уровне статистической тенденции: EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>CD44<sup>-</sup>CD24<sup>-</sup>N-cadherin<sup>+</sup> –  $R = 0,57$  ( $p = 0,10$ ), EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>CD44<sup>+</sup>CD24<sup>-</sup>N-cadherin<sup>+</sup> –  $R = 0,63$  ( $p = 0,070$ ).

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Оценка экспрессии Hsp27 и Hsp90 методом иммуногистохимии в опухолевом и стромальном компонентах серозных опухолей яичников может быть использована как дополнительный морфологический критерий злокачественного потенциала. Особенно информативной является ядерная экспрессия Hsp27, ассоциированная с высокой степенью злокачественности и неблагоприятным прогнозом.

2. Измерение внеклеточного Hsp27 в асцитической жидкости методом ИФА при наличии злокачественного асцита может служить дополнительным лабораторным маркером опухолевой агрессии. Повышение концентрации Hsp27 ассоциировано с наличием прогностически неблагоприятных клеточных популяций в асците.

3. Фенотипический анализ EpCAM<sup>+</sup> опухолевых клеток в асцитической жидкости, включая гибридные формы (EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>), стволовые (CD44<sup>+</sup>, CD133<sup>+</sup>) и EMT-ассоциированные клетки (N-cadherin<sup>+</sup>), целесообразен при комплексной оценке опухолевого микроокружения. Преобладание указанных популяций может учитываться при формировании прогноза и выборе тактики терапии.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Различные популяции EpCAM-положительных клеток в асцитической жидкости у больных раком яичников: связь со степенью канцероматоза / Е. В. Кайгородова, М. О. Очиров, С. В. Молчанов [и др, в том числе **О. И. Ковалев**] // **Бюллетень сибирской медицины**. – 2021. – Т. 20. – № 2. – С. 44–53.

2. Гетерогенность EpCAM-положительных клеток в асцитической жидкости low-grade серозной карциномы яичников: клинический случай / Е. В. Кайгородова, С. В. Вторушин, **О. И. Ковалев** [и др.] // **Опухоли женской репродуктивной системы**. – 2021. – Т. 17. – № 4. – С. 90–95.

3. **Ковалев, О. И.** Стволовые свойства опухолевых клеток асцитической жидкости у больных раком яичника: ключ к управлению распространением процесса / **О. И. Ковалев**, С. В. Вторушин, Е. В. Кайгородова // **Бюллетень сибирской медицины**. – 2023. – Т. 22. – № 2. – С. 122–133.

4. Особенности экспрессии молекулярных шаперонов Hsp27 и Hsp90 при серозном раке яичников / Е. В. Кайгородова, **О. И. Ковалев**, М. Ю. Грищенко, С. В. Вторушин // **Journal**

**of Siberian Medical Sciences.** – 2025. – Т. 9. – № 2. – С. 7–18.

5. **Патент 2816339 Российская федерация**, МПК G01N 33/52, G01N 33/68, G01N 33/57449, G16H 50/30. Способ прогнозирования риска опухолевой прогрессии у больных раком яичников : № 2023120150 : Заявл. 31.07.2023 : опубл. 28.03.2024 / Кайгородова Е. В., Грищенко М. Ю., Чернышова А. Л., Козик А. В., **Ковалев О. И.** ; заявитель и патентообладатель Томский НИМЦ. – 9 с.

6. Vtorushin, S. Expression patterns of molecular chaperones Hsp27 and Hsp90 in serous ovarian cancer / S. Vtorushin, E. Kaigorodova, O. Kovalev // Virchows Archiv (37th European Congress of Pathology, Vienna, Austria, september 6–10, 2025). – 2025. – Vol. 487 (S.1). – P. 238.

7. Оценка взаимосвязи количества атипичных/гибридных опухолевых клеток в асцитической жидкости с индексом перитонеального канцероматоза у больных раком яичников / Е. В. Кайгородова, **О. И. Ковалев**, А. Л. Чернышова [и др.] // Молекулярная диагностика : сборник трудов X Юбилейной международной научно-практической конференции. – Москва, 2021. – С. 160.

8. Оценка взаимосвязи количества атипичных/гибридных опухолевых клеток в асцитической жидкости с индексом перитонеального канцероматоза у больных раком яичников / Е. В. Кайгородова, **О. И. Ковалев**, А. Л. Чернышова [и др.] // Злокачественные опухоли. – 2021. – Т. 11. – № 3 (Suppl. 1). – С. 53–54.

9. **Ковалев, О. И.** Наличие стволовых опухолевых клеток в асцитической жидкости у больных с пограничными опухолями и раком яичников / **О. И. Ковалев** // Морфологические науки – фундаментальная основа медицины : материалы V Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых учёных, 10 декабря 2020 г. – Томск, 2020. – С. 117–120.

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

ИФА – иммуноферментный анализ

ПОЯ – пограничные опухоли яичников

РЯ – рак яичников

СРЯ – серозный рак яичников

СРЯВСЗ – серозный рак яичников высокой степени злокачественности

СРЯНСЗ – серозный рак яичников низкой степени злокачественности

ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход

TNM – Tumor-Node-Metastasis (классификация распространённости опухоли)

ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay (иммуноферментный анализ, ИФА)

EpCAM – epithelial cell adhesion molecule (молекула адгезии эпителиальных клеток)

ECOG – Eastern Cooperative Oncology Group (шкала оценки функционального статуса пациента)

HG – high-grade (высокая степень злокачественности)

Hsp – heat shock proteins (белки теплового шока)

Hsp27 – heat shock protein 27 (белок теплового шока 27 кДа)

Hsp90 – heat shock protein 90 (белок теплового шока 90 кДа)

LG – low-grade (низкая степень злокачественности)

N-cadherin – neural cadherin (нейральный кадгерин)

PIV – Predictive Index Value (лапароскопический индекс перитонеального канцероматоза)

WHO – World Health Organization (Всемирная организация здравоохранения)