

Серозный рак яичников. Цитологическая, иммуноцитохимическая и молекулярно-генетическая диагностика

О.Г. Григорук^{1,2}, Е.Э. Пупкова², Л.М. Базулина², А.Ф. Лазарев^{1,2}

¹Алтайский филиал ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;

²КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер»; Россия, 656049, Барнаул, ул. Никитина, 77

Контакты: Ольга Григорьевна Григорук cytolakod@rambler.ru

В статье приведены результаты диагностики 65 пациенток с серозным раком яичника (РЯ). Исходя из данных исследования 13 (20,0 %) пациенток определили в 1-ю группу (low grade) и 52 (80,0 %) — во 2-ю (high grade). Установлено, что использование иммуноцитохимических методик дает возможность верифицировать РЯ, дифференцируя его и метастазы аденокарцином из других органов, что чрезвычайно важно для последующего лечения. При условии достаточного количества клеток опухоли цитологический материал позволяет провести молекулярно-генетические исследования. По результатам генетического исследования материала ДНК во всех наблюдениях отмечено отсутствие мутации V600E в гене BRAF. В гене KRAS обнаружена генетическая поломка у 5 пациенток 1-й группы, из них в 4 случаях была выявлена мутация G12V и в одном — G12D. Мутации в гене BRCA1 обнаружены в 4 образцах во 2-й группе, 3 из которых представлены мутацией 5382insC, один — T300G. Использование многофакторного анализа при оценке клеточного состава опухолей пациенток с карциномами low grade и high grade позволило выделить наиболее информативные клеточные признаки серозного рака яичника, что позволит их дифференцировать при световой микроскопии.

Ключевые слова: серозный рак яичника, цитологическая и иммуноцитохимическая диагностика, мутации генов BRCA1/2, KRAS, BRAF

DOI: 10.17650/1994-4098-2016-12-2-70-76

Serous ovarian carcinoma. Cytological and immunocytochemical and molecular genetic diagnostics

O.G. Grigoruk^{1,2}, E.E. Pupkova², L.M. Bazulina², A.F. Lazarev^{1,2}

¹Altay branch of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center;

²Altay Regional Oncology Dispensary; 77 Nikitina St., Barnaul, 656049, Russia

The results of diagnostics of 65 patients with serous ovarian carcinoma are given in the article. Analysis of the investigation has allowed to include 13 patients (20 %) in the group 1 (low grade) and 52 (80 %) in the group 2 (high grade). According to the results of the executed work it is determined that the Immunocytochemical technique allows to verify ovarian carcinoma, differentiating it with carcinoma metastases of the other organs, that is very important for following treatment. In case of sufficient tumour cells in cytological specimens, specimens are valuable material for molecular-genetic researches. According to the results of genetic DNA investigations, suitable for the estimation, there was absence mutation of V600E in the BRAF-gene in all cases. The genetic mutation of KRAS-gene with 5 patients from the group 1 (low grade) was noticed. Among them the genetic mutation of G12V was detected in 4 cases and mutation of G12D in 1 case. The mutations in the BRCA1-gene were detected in 4 cases from the 2th group (high grade) three of them were presented by 5382insC mutation and one of them by T300G mutation. The usage of the multivariate analysis evaluating the cell composition of low and high grade carcinomas was allowed to distinguish the most significant features off ovarian carcinoma cells that will be allow to differentiate them by means of light microscopy.

Key words: serous ovarian carcinoma, cytological and immunocytochemical diagnostics, gene mutation of BRCA1/2, KRAS, BRAF

Введение

Рак яичников (РЯ) является одним из наиболее распространенных и неблагоприятно протекающих опухолевых заболеваний у женщин, лидирующий по числу смертных случаев среди новообразований женских половых органов. В мире ежегодно у 225 тыс. 500 женщин диагностируется РЯ и более 140 тыс. из них умирают [1, 2]. К таким удручающим показателям приводит отсутствие высокочувствительных

методик, позволяющих установить диагноз на ранних стадиях процесса и, как следствие этого, подавляющее число впервые выявленных пациенток с запущенными формами, при которых прогноз заболевания крайне неудовлетворителен [3, 4]. На начальных этапах заболевания РЯ не имеет клинических симптомов. Даже при наличии диссеминации метастазов в брюшной полости клиника заболевания носит «стертый» характер, впервые обратившиеся за медицинской

помощью женщины оказываются на поздних стадиях процесса.

Понимание этиологии РЯ в корне изменилось в последние годы. Традиционно считалось, что РЯ развивается из метаплазированного поверхностного эпителия, в котором возникают мутации вследствие травматического повреждения во время овуляции и последующей инвагинации в инклюзионные кисты. Классическая теория подвергнута сомнению. В последние годы в качестве второго источника рака рассматривается первоначальное повреждение эпителия маточных труб вследствие его инвагинации в инклюзионные кисты [5–7]. По морфологической и иммуногистохимической оценке эпителий инклюзионных кист яичника идентичен эпителию маточной трубы. Это заключение было основано на результатах исследования материала профилактических сальпингоооариэктомий у женщин с мутациями в генах *BRCA* и высоким риском развития РЯ. Установлено, что первичные неинвазивные и инвазивные карциномы обнаруживаются в маточной трубе чаще, чем в яичнике [5–7]. Новые сведения о происхождении серозных опухолей имеют значение для диагностики и профилактики рака для женщин с генетической предрасположенностью к РЯ.

На основании клинических, морфологических и молекулярно-генетических данных опухоли яичника делят на 2 группы – I и II типа. Опухоли I типа медленно растут, возникают из пограничных опухолей. К ним относят микропапиллярные серозные, муцинозные, эндометриоидные аденокарциномы. Они характеризуются мутациями в различных генах, включая *KRAS*, *BRAF*, *PTEN* [8, 9]. Опухоли II типа отличаются быстрым ростом, очень агрессивные, как правило, не связаны с предшествующими пограничными опухолями. Диагностируются они на поздних стадиях. К ним относят опухоли высокой степени злокачественности: серозные аденокарциномы, злокачественные мезодермальные опухоли (карциносаркомы) и недифференцированные карциномы. Опухоли II типа характеризуются мутацией *TP53* и высокой генетической неустойчивостью, составляют большинство опухолевых образований яичника [10].

Среди злокачественных эпителиальных опухолей яичников главенствующая роль принадлежит серозному раку. Как известно, у большинства больных (около 80 %) гистологическая форма опухоли представлена серозной аденокарциномой. В новой классификации опухолей яичников (ВОЗ, 2013) злокачественные серозные карциномы подразделены на опухоли низкой степени злокачественности (low grade серозная карцинома, 8460/3) и карциномы высокой степени злокачественности (high grade серозная карцинома, 8461/3). При описании опухолей наряду с эпидемиологической характеристикой, молекулярно-

генетическими нарушениями, клинико-морфологическими данными и иммунопрофилем большое внимание уделяется прогнозу и прогнозирующим признакам [5]. При опухолях низкой степени злокачественности определяется высокая частота мутаций *KRAS* и *BRAF*, а мутации *TP53* отсутствуют. При опухолях высокой степени злокачественности отмечают высокий уровень неустойчивости генома и наличие мутаций *TP53*. Кроме мутации *TP53*, обнаруживается инактивация *BRCA1/2* [5].

Опухоли low и high grade серозных карцином развиваются по разным молекулярным путям, отличаются друг от друга по своей биологии, молекулярно-генетическим особенностям, клиническому течению, прогнозу и ответу на проводимое лечение. Опухоли I типа развиваются пошагово – от серозных цистаденом к пограничным опухолям – и только в дальнейшем приобретают злокачественный характер; составляют приблизительно 5 % всех серозных карцином. Опухоли II типа включают высокозлокачественные агрессивные типы карцином. Исследовательские работы подтверждают происхождение серозных карцином II типа из фимбриальных отделов маточных труб. Однако при изучении результатов лечения пациенток этой группы было отмечено, что носители герминальных мутаций генов *BRCA1/2* существенно лучше отвечают на терапию препаратами платины и в целом отличаются лучшей общей выживаемостью [11–13]. Такой канцерогенез точно установлен только для пациенток-носителей мутаций *BRCA1*, которые составляют не более 10–12 % [14, 15].

Проблема диагностики и лечения опухолей яичников сложна и чрезвычайно актуальна. Даже при наличии диссеминации метастазов в брюшной полости клиника заболевания носит стертый характер. Около 80 % случаев РЯ диагностируют на III–IV стадиях болезни. Опухолевый метастатический асцит и плеврит – частые осложнения при РЯ, летальный исход при РЯ в основном связан с распространением метастазов по перитонеальным и/или плевральным поверхностям [16, 17]. Исследование асцитической и плевральной жидкости в алгоритме обследования пациенток занимает важное место. Результаты цитологического исследования часто служат единственным морфологическим обоснованием диагноза до лечения [18–20]. Кроме цитологического исследования жидкости на наличие клеток опухоли, полученный выпот позволяет проводить иммуноцитохимические (ИЦХ) исследования, значительно повышающие возможности диагностики. Данные об использовании молекулярно-генетических методов исследования клеток опухоли, находящихся в жидкости, в доступной научной литературе немногочисленны, хотя полученные знания важны для лечения и прогноза РЯ.

Материалы и методы

В основу работы положены результаты обследования 65 пациенток с серозным РЯ, находившихся на лечении в Алтайском краевом онкологическом диспансере (АКОД) в течение 2015 г. Дизайн исследования: из цитологических регистрационных журналов выбирали пациенток с подозрением на РЯ, серозную карциному. По данным медицинских карт и канцер-регистра АКОД, а также результатам гистологического исследования уточняли принадлежность клеток опухоли к РЯ и дальнейшую судьбу пациентки. Для цитологической диагностики использовали пункционный материал. Метод световой микроскопии с окрашиванием препаратов по Паппенгейму сочетали с ИЦХ-методом. Применяли стандартную методику проведения ИЦХ-реакций. Для визуализации реакции антиген/антитело использовали тест-систему REAL™ EnVision™ (ДАКО). В качестве хромогена применяли DAB (3,3-diaminobenzidine), после проведения реакции мазки докрашивали гематоксилином.

Молекулярно-генетические исследования проводили на материале с цитологических препаратов. Отобранные комплексы опухолевых клеток отмечали маркером на цитологических препаратах и растворяли лизирующим раствором. При выделении ДНК использовали набор QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Германия). Очистку нуклеиновых кислот проводили в автоматическом режиме на станции QIAcube по стандартному протоколу. Определение мутаций в генах *BRCA*, *BRAF* и *KRAS* осуществляли методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с помощью наборов real-time-PCR (ООО «Биолинк», Россия). Исследовали следующие мутации: в гене *BRCA1* – 5382insC, 4153delA, 185delAG, T300G; в гене *BRCA2* – 6174delT; в гене *KRAS* – G12C, G12S, G12R, G12V, G12D, G12A, G13D и V600E гена *BRAF*. Статистический анализ проводили на персональном компьютере с использованием программ Microsoft® Office Excel 2007 и Statistica Microsoft Windows, версия 10.0, StatSoft Inc. (США).

Результаты

Метастаз серозной аденокарциномы по клеточному составу асцитической жидкости диагностировали у 40 (61,5 %) пациенток, у 4 из них наблюдали полисерозит (табл. 1).

В 52 наблюдениях диагноз у пациенток поставлен впервые. Рецидив серозного рака отмечен через 1–9 лет у 20,0 % ($n = 13$) больных. Одногодичная летальность составила 21,5 % ($n = 14$) в сроки от 1 до 9 мес.

Для уточнения первичного очага метастазирующей опухоли ИЦХ-исследования проведены у 12 пациенток. Серозные карциномы яичников имели иммунофенотип: Ber-EP4+, WT-1+, CEAmono-, CEAPoly+/-,

Таблица 1. Распределение пациенток в зависимости от выявления метастаза серозной аденокарциномы цитологическим методом

Клеточный материал	Число пациенток	%
Асцитическая жидкость	40	61,5
Плевральная жидкость	3	4,6
Пунктат через задний свод влагалища	15	23,1
Лимфатические узлы	7	10,8
аксиллярные	1	1,5
надключичные	2	3,1
забрюшинные	2	3,1
паховые	2	3,1
Всего	65	100

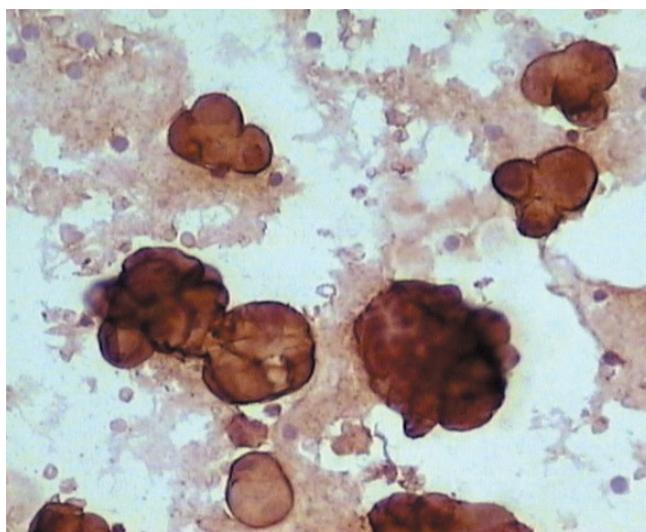


Рис. 1. Цитологический препарат асцитической жидкости. Иммунопозитивная цитоплазматическая реакция (3+) на CA125 Clone OC125 в клетках high grade серозного рака яичника у пациентки 56 лет. Использование полимерной системы иммунодетекции. $\times 200$

CK7+, CK18+, CK20-, CK5/6-, D2-40-/+, CDX2-, claudin+, CA125+ (рис. 1), изредка отмечали положительную реакцию на калретинин и мезотелин (табл. 2).

Оценка пролиферативной активности клеток опухоли по индексу Ki-67, проведенная в 2 наблюдениях, составила 33,3 %; экспрессия p53 наблюдалась в 2 случаях в 45,3 % клеток.

Молекулярно-генетические исследования проведены у 38 пациенток с серозным РЯ, у 3 (7,9 %) пациенток концентрация выделенной ДНК для исследования была недостаточной. По результатам генетического исследования материала ДНК, пригодного для оценки данных ($n = 35$), во всех наблюдениях отмечено отсутствие мутации V600E в гене *BRAF*. В гене *KRAS* обнаружена генетическая поломка у 5 женщин, у 4 из них была выявлена мутация G12V

Таблица 2. Иммуноцитохимические реакции в клетках метастаза серозного рака яичника в асцитической и плевральной жидкости

Маркер	Число пациенток				
	общее	в зависимости от оценки реакции в клетках метастаза в асцитической и плевральной жидкости			
		3+	2+	1+	–
Calretinin Clone DAK-Calret 1	10	0	0	2	8
Mesothelial Cell Clone HBME-1	10	0	0	3	7
Cytokeratin 5/6 Clone D 5/16 B4	12	0	1	0	11
Cytokeratin 7 Clone OV-TL 12/30	12	12	0	0	0
Cytokeratin 18 Clone DC 10	12	12	0	0	0
Cytokeratin 20 Clone Ks20.8	12	0	0	0	12
Vimentin Clone V9	6	0	0	1	5
Epithelial Antigen Clone Ber-EP4	12	12	0	0	0
Carcinoembryonic Antigen Clone II-7	12	0	0	0	12
Carcinoembryonic Antigen poly	12	0	5	7	0
Podoplanin Clone D2-40	9	0	1	6	2
WT1 (Wilms' Tumor 1 Protein) Clone 6F-H2	10	3	6	0	1
CDX2 Clone DAK- CDX2	7	0	0	0	7
Mammaglobin Clone 304-1A5	2	0	0	0	2
Claudin 4 Polyclonal	7	7	0	0	0
CA 125 Clone OC125	10	10	0	0	0

и в одном – G12D (рис. 2). Мутации в гене *BRCAl* обнаружены в 4 образцах, 3 из которых представлены мутацией 5382insC, одна – T300G (см. рис. 2).

По результатам исследования 13 (20,0 %) пациенток определили в 1-ю группу (low grade) и 52 (80,0 %) – во 2-ю (high grade) в возрасте $51,29 \pm 21,35$ и $60,73 \pm 10,47$ года соответственно (рис. 3).

Молекулярно-генетическую исследования проведены у 7 пациенток 1-й группы (low grade), у 5 (71,4 %) из них в гене *KRAS* отмечены описанные выше мутации. У 4 пациенток серозная карцинома была диагностирована ранее, по анамнестическим данным установлено, что прогрессирование заболевания отмечали

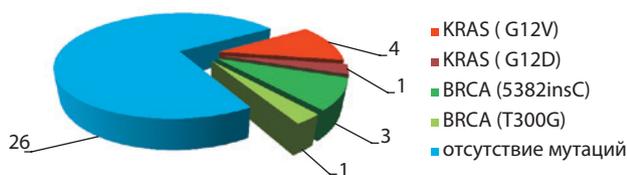


Рис. 2. Мутации, обнаруженные при молекулярно-генетических исследованиях у больных серозным раком яичников

через 3 года ($n = 2$), 6 лет ($n = 1$) и 9 лет (пациентке в настоящий момент 39 лет). Все пациентки группы low grade ($n = 13$) в течение года живы.

Пациенткам группы high grade были проведены ИЦХ-исследования в связи с необходимостью дифференциальной диагностики метастазов РЯ и карцином из других органов. В данном исследовании не было возможности определения мутации в гене *TP53*, однако в 2 наблюдениях при ИЦХ-исследовании проведена реакция с маркером p53 (см. табл. 2). Окрашивание ядер клеток опухоли наблюдали в 33,3 %, что коррелирует с мутацией *TP53*. Молекулярно-генетические исследования в этой группе проведены у 28 из 52 па-

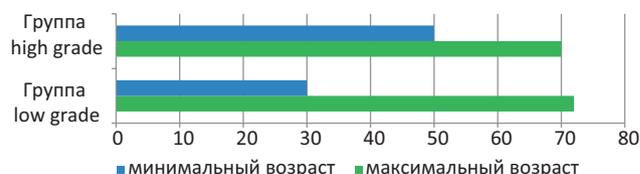


Рис. 3. Возрастной диапазон в группах пациенток с серозным раком яичников low grade и high grade

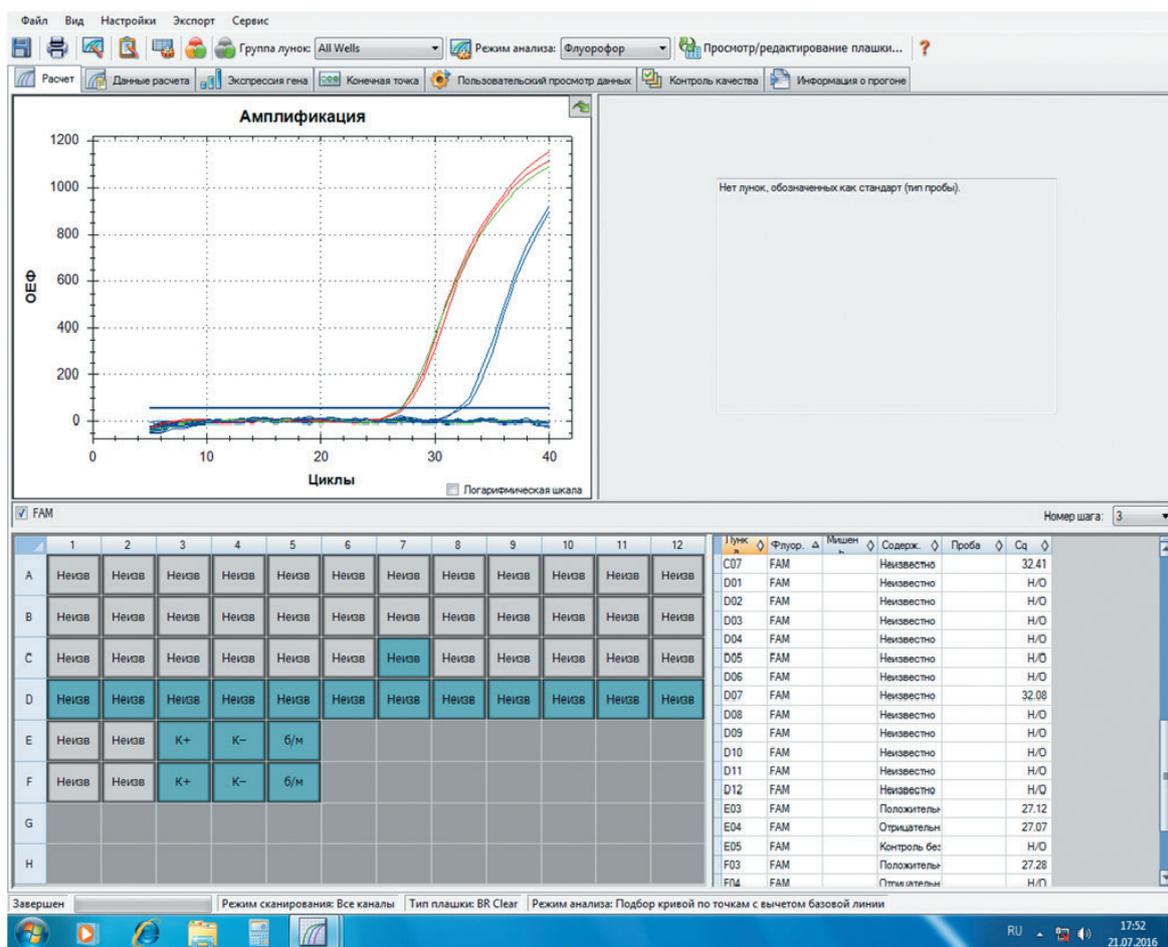


Рис. 4. Мутация 5382insC в гене BRCA1, выявленная посредством аллель-специфичной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на приборе CFX-96. ДНК выделена с цитологического препарата пациентки 44 лет с серозным раком яичника high grade

циенток. В течение года летальный исход зарегистрирован в 14 (26,9 %) случаях в группе high grade с серозной карциномой, 4 (14,3 %) пациентки, носители мутаций в гене BRCA1, живы (рис. 4).

При оценке цитологических препаратов серозной карциномы low grade при световой микроскопии ретроспективно отмечали комплексы, формирующие папиллярные, железистые и солидные структуры. Опухолевые клетки были мелкие и средние по размеру (20–35 мкм в диаметре), округлой и овальной формы; ядра занимали большую часть клеточных тел, имели ровные четкие контуры; хроматин в клетках интенсивно окрашен, сетчатый, равномерно распределенный под ядерной мембраной; ядрышки просматривались редко; цитоплазма была скудной, базофильной. В клетках опухоли серозной карциномы группы low grade отмечали признаки секреции в виде венчика тонких волокон с 1 полюса, подобно ресничкам, и присутствие единичных образований псаммомных телец (рис. 5).

Серозный РЯ high grade, по нашим данным, отличался присутствием клеточных скоплений с выраженным полиморфизмом: размер клеток опухоли варьи-

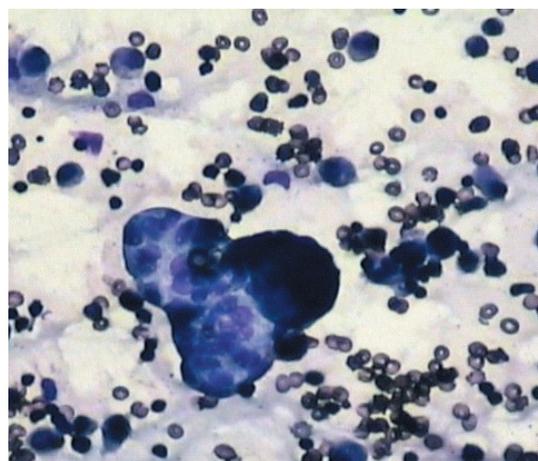


Рис. 5. Цитологический препарат асцитической жидкости. Комплекс клеток серозной карциномы low grade с наличием псаммомного тельца. У пациентки 40 лет обнаружена мутация в гене KRAS – G12V. Окрасивание по Паппенгейму. × 200

ровал от 30 до 80 мкм; ядра неправильной формы, уродливые, разной окраски; в ядрах клеток опухоли просматривались гипертрофированные ядрышки; хро-

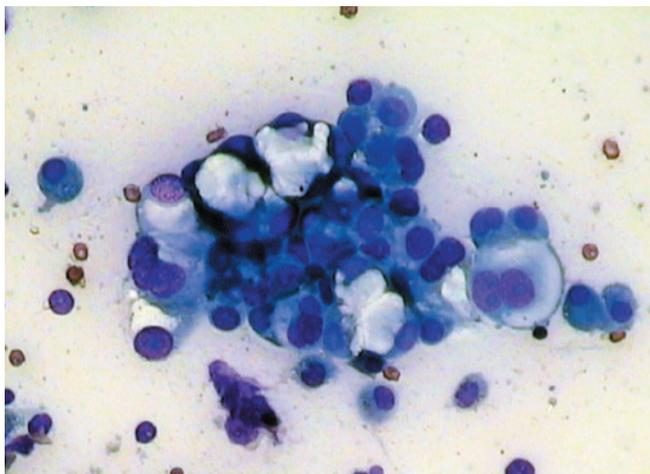


Рис. 6. Цитологический препарат асцитической жидкости. Комплексы клеток серозной карциномы high grade. При молекулярно-генетическом исследовании у пациентки 66 лет, мутаций в генах BRCA, BRAF, KRAS не обнаружено. Окрасивание по Паппенгейму. $\times 200$

матин в одних клетках был компактный и гиперхромный, в других – рыхлый, неравномерно распределенный; отмечали разрушенные клетки и митозы; большое количество клеток имело крупные, оптически «пустые» вакуоли (рис. 6).

Таблица 3. Распределение признаков (вариантов) клеток метастаза серозного рака яичников по факторам при проведении многофакторного анализа

Клеточные признаки (варианты)	Факторный вес клеточных признаков					
	при карциноме low grade			при карциноме high grade		
	Фактор					
	1	2	3	1	2	3
1. Железистые и железисто-папиллярные комплексы	0,86					0,56
2. Разнообразная, полиморфная форма клеток				0,81		
3. Размеры клеток от 20 до 35 мкм		0,64				
4. Размеры клеток от 30 до 80 мкм					0,86	
5. Ядра овальной формы, смещенные к краю						
6. Гиперхромная, реже – рыхлая структура хроматина ядер						
7. Цитоплазма базофильная, в единичных клетках – мелкозернистая						
8. Гипертрофированные нуклеолы (2–3 мкм)						
9. Крупные, оптически пустые, различные по размеру вакуоли				0,96		
10. Одно-, двух- и многоядерные клетки						
11. Митозы отмечаются от 1 до 4 в поле зрения					0,64	
12. Наличие псаммомных телец			0,21			0,21
13. Наличие признаков секреции в виде венчика тонких волокон с одного полюса		0,36				

Примечания: 1. Признаки приведены в порядке уменьшения частоты выявления (значимости) согласно собственным данным. 2. Не приводятся показатели с незначительным факторным весом (пустые клетки).

Для выделения наиболее информативных клеточных признаков в 2 типах серозного РЯ применен многофакторный анализ, в котором оценивали описанные выше признаки (табл. 3).

Наиболее значимыми признаками (вариантами) по факторам для серозной карциномы low grade были папиллярные структуры с факторным весом 0,86; размеры клеток до 35 мкм с факторным весом 0,64. Признаки секреции в виде венчика тонких волокон имели невысокий факторный вес 0,36 и присутствие образований псаммомных телец 0,21 (см. табл. 3).

Для серозной карциномы high grade наиболее высокий факторный вес имел признак наличия крупных, оптически «пустых» вакуолей – 0,96; крупные размеры клеток опухоли до 80 мкм – 0,86; разнообразная, полиморфная форма клеток – 0,81; присутствие разрушенных клеток и митозов – 0,64 (см. табл. 3).

По результатам многофакторного анализа, при цитологической диагностике с использованием только световой микроскопии возможно указание на серозные карциномы низкой степени злокачественности (серозная карцинома low grade, 8460/3) и карциномы высокой степени злокачественности (серозная карцинома high grade, 8461/3), что является основанием

для проведения целенаправленных молекулярно-генетических исследований.

Заключение

В диагностическом алгоритме обследования пациенток с подозрением на РЯ цитологический метод диагностики выполняет немаловажное значение. Использование метода с применением традиционных цитологических и ИЦХ-методик позволяет при дифференциальной диагностике уточнить принадлежность клеток опухоли к серозному РЯ. Кроме этого, цитологические препараты с наличием достаточного количества клеток опухоли, приготовленных из материала асцитической и плевральной жидкости, а также пунктатов лимфатических узлов и пунктатов через задний свод влагалища, являются полноценным материалом для молекулярно-генетических исследований. В клетках карциномы low grade в нашем

исследовании мутации в гене *KRAS* обнаружены в 71,4 % случаев. Прогноз у этих пациенток более благоприятный, как и у небольшой части пациенток с мутациями *BRCA1*—14,3 % в группе high grade, в связи с тем, что они более чувствительны к терапии препаратами платины. С учетом данного факта молекулярно-генетические исследования необходимо проводить пациенткам с серозной карциномой high grade для выявления мутаций *BRCA1* и мутаций *KRAS* в группе пациенток с карциномой low grade. Важно определять принадлежность клеток опухоли к низкой и высокой степени злокачественности серозных карцином на цитологическом материале. Исследование с применением многофакторного анализа позволило выделить наиболее информативные клеточные признаки в 2 типах серозного РЯ, благодаря чему можно их дифференцировать при световой микроскопии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований женской половой сферы. Онкогинекология 2012;(1):18–23. [Aksel' E.M. Statistics of malignant tumors of the female genital sphere. *Onkoginekologiya = Oncogynecology* 2012;(1):18–23. (In Russ.)].
2. Jemal A., Siegel R., Xu J., Ward E. Cancer statistics. *CA. Cancer J Clin* 2010;60:277–300.
3. Fleming J.S., Beaugie C.R., Haviv I. et al. Incessant ovulation, inflammation and epithelial ovarian carcinogenesis: revisiting old hypotheses. *Mol Cell Endocrinol* 2006;247:4–21.
4. Жордания К.И., Хохлова С.В. Ранний рак яичников. Наш взгляд на проблему. *Онкогинекология* 2012(1):51–8. [Zhordania K.I., Khokhlova S.V. Early ovarian cancer. Our view of the problem. *Onkoginekologiya = Oncogynecology* 2012(1):51–8. (In Russ.)].
5. Ожиганова И.Н. Морфология рака яичников в классификации ВОЗ 2013 года. *Практическая онкология* 2014;15(4):143–52. [Ozhiganova I.N. Morphology of the ovarian cancer in the WHO classification 2013. *Prakticheskaya onkologiya = Practical Oncology* 2014;15(4):143–52. (In Russ.)].
6. Жордания К.И., Паяниди Ю.Г., Калининцева Е.В. Два пути развития серозного рака яичников. *Онкогинекология* 2014;(3):42–8. [Zhordania K.I., Payanidi Yu.G., Kalinicheva E.V. Two ways of development of the serous ovarian cancer. *Onkoginekologiya = Oncogynecology* 2014;(3):42–8. (In Russ.)].
7. Нейштадт Э.Л., Ожиганова И.Н. Опухоли яичника. СПб.: Фолиант, 2014. 350 с. [Neyshtadt E.L., Ozhiganova I.N. Ovarian tumors. Saint Petersburg: Foliant, 2014. 350 p. (In Russ.)].
8. Heintz A.P., Odicino F., Maisonneuve P. et al. Carcinoma of the ovary FIGO 6th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 2006;95(Suppl 1):161–92.
9. Hennessy B.T., Coleman R.L., Markman M. Ovarian cancer. *Lancet* 2009;374:1371–82.
10. Kurman R.J., Viswanathan K., Roden R. et al. Early detection and treatment of ovarian cancer: shifting from early stage to minimal volume of disease based on a new model of carcinogenesis. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:351–6.
11. Rubin S.C., Benjamin I., Behbakht K. et al. Clinical and pathological features of ovarian cancer in women with germ-line mutations of *BRCA1*. *N Eng J Med* 1996;335:1413–6.
12. Демидова И.А. Наследственно обусловленный рак яичников. Современная онкология 2015;17(3):70–5. [Demidova I.A. Inherited ovarian cancer. *Sovremennaya onkologiya = Modern Oncology* 2015;17(3):70–5. (In Russ.)].
13. Yang D., Khan S., Sun Y. et al. Association of *BRCA1* and *BRCA2* mutations with survival, chemotherapy sensitivity, and gene mutator phenotype in patients with ovarian cancer. *JAMA* 2011;306(14):1557–65.
14. Kurman R.J., Ellenson L.H., Ronnett B.M. Blaustein's pathology of the female genital tract. Sixth edition. Springer, 2011. 1252 p.
15. Kurman R.J., Carcangiu M.L., Herrington C.S., Young R.H. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. Fourth Edition. IARS: Lyon, 2014. 307 p.
16. Kobayashi Y., Terauchi F., Nishi H. et al. A case of advanced ovarian cancer upstaged on the bases of pleural washing cytology. *J Obstet Gynaecol Res* 2009;35(3):588–92.
17. Campos, S.M., Ghosh S. A current review of targeted therapeutics for ovarian cancer. *J Oncol* 2010;2010:149362. DOI: 10.1155/2010/149362.
18. Khan N., Afroz N., Aquil B. et al. Neoplastic and non-neoplastic ovarian masses. Diagnosis on cytology. *J Cytol* 2009;(26): 129–33.
19. Koss L.G., Melamed M.R. Tumours of the ovary and fallopian tube: In: Koss' Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases. 5th ed. New York, Lippincott Williams & Wilkins, 2006. P. 491–508.
20. Mathur S.R. Ovarian cancer: role of cytology. *Indian J Med Paediatric Oncol* 2007;27(1):5–6.