На правах рукописи

Чам Карине Гургеновна

ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ

14.01.12 – онкология

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2020

Работа выполнена на кафедре радиологии, хирургии и онкологии Федерального бюджетного государственного учреждения «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова».

Научный руководитель:

Раскин Григорий Александрович - доктор медицинских наук.

Научный консультант:

Винокуров Владимир Леонидович - Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор.

Официальные оппоненты:

Максимов Сергей Янович - доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения "Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)", заведующий онкогинекологическим отделением

Иванцов Александр Олегович – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, старший научный сотрудник научной лаборатории морфологии опухолей

Ведущее научное учреждение: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится 27 мая 2020 г. в 13.00 на заседании Диссертационного Совета Д 208.116.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 197758, Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, д 70, зал заседаний Ученого совета.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» Минздрава России и на сайте центра: https://rrcrst.ru/dissertaczionnyij-sovet/dissertaczionnyie-issledovaniya.

Автореферат разослан «___»_____2020 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук **Генералов Михаил Игоревич**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Рак тела матки – одно из наиболее распространенных заболеваний женских гениталий. За последние десятилетия во всех экономически развитых странах мира заболеваемость раком тела матки (РТМ) приобрела выраженную тенденцию к росту, опережая заболеваемость раком шейки матки, занимает в настоящее время в структуре онкогинекологической патологии первое место (Sheikh M.A. et al., 2014; Siegel R.L. et al., 2015).

Среди злокачественных новообразований у женского населения в мире, доля рака эндометрия составляет 4,8%. В 2012 году в мире было диагностировано 320 тысяч новых случаев рака тела матки, из них 53% приходилось на развитые страны (Globocan, 2012).

В 2015 году уровень заболеваемости раком эндометрия в РФ составил 166 человек на 100 000 населения, что составило 7% всех онкологических заболеваний (Каприн А.Д. и др., 2015) и вывело рак эндометрия на 3-е место.

При раке эндометрия (РЭ) прогноз и выживаемость больных во многом зависят от стадии заболевания, гистологического типа опухоли, позволяющих индивидуализировать лечение. Факторами неблагоприятного прогноза, достоверно влияющими на отдаленные результаты лечения больных РЭ, являются стадия, глубина инвазии в миометрий, степень дифференцировки и размер опухоли, наличие лимфогенных метастазов, опухолевых эмболов в кровеносных и лимфатических сосудах миометрия, опухолевых клеток в смывах из брюшной полости.

Достижения генетики и молекулярной биологии последних десятилетий оказали огромное влияние на понимание природы и прогрессии РЭ. Одним из геномных нарушений, выявляемых при РЭ, являются изменения в повторяющихся последовательностях ДНК, так называемых микросателлитах (Backes F.J., 2009). Эти нарушения отражают различные

повреждения в системе репарации неспаренных нуклеотидов ДНК: MSH2, MSH6, MLH1, PMS2 (MMR).

Известно, что микросателлитная нестабильность (MSI) имеет важное прогностическое значение при раке толстой кишки, свидетельствует о более благоприятном течении заболевания, резистентности к 5-фтор-пиримидинам и чувствительности к иринотекану. Кроме того, в 2017 Food and Drug Administration (Управление по санитарному надзору за качеством продуктов и медикаментов США), а в марте 2019 года Минздрав РФ зарегистрировали нарушения в системе репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (dMMR/MSI-H) в качестве показания для иммунотерапии при любой солидной опухоли.

Имеются достаточно противоречивые данные о прогнозе течения и чувствительности к химиотерапии рака эндометрия с MSI: ряд исследований свидетельствует о неблагоприятном клиническом течении РЭ с MSI, другие – об отсутствии связи между наличием MSI и прогнозом течения заболевания, третьи – о благоприятном клиническом течении РЭ с MSI (Caduff R.F. et al., 1996; Zighelboim I. et al., 2015; Bilbao C. et al., 2010).

Кроме того, микросателлитная нестабильность характерна для синдрома Линча (наследственный синдром, вызванный мутацией в одном из генов репарации неспаренных оснований) что обусловливает высокий риск развития рака толстой кишки у больных РЭ. Риск возникновения неоплазии эндометрия в течение жизни у лиц с синдромом Линча составляет 42-54% (Crispens M.A. et al., 2012).

Несмотря на ряд работ, посвященных изучению роли MSI в прогнозе развития эндометриоидной аденокарциномы эндометрия (ЭАЭ) и рисках метастазирования, требуется дальнейшее изучение генов репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (MMR) при РЭ для улучшения диагностики и прогнозирования течения заболевания, а также определения адекватной тактики лечения.

Таким образом, оценка частоты встречаемости повреждения в генах репарации неспаренных нуклеотидов ДНК при ЭАЭ, сопоставление наличия повреждения в MMR с основными прогностическими факторами и показателями выживаемости у пациенток с ЭАЭ является актуальной проблемой.

Цель исследования

Определить диагностическое и прогностическое значение состояния генов репарации неспаренных нуклеотидов ДНК при эндометриоидной аденокарциноме эндометрия.

Задачи исследования

1. Выявить частоту встречаемости повреждения в генах репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (MMR) при эндометриоидной аденокарциноме.
2. Сопоставить наличие повреждения MMR с основными прогностическими факторами (возрастом больных, степенью распространения опухоли и степенью ее дифференцировки).
3. Сравнить показатели 5-летней общей выживаемости в группах с наличием повреждения MMR и без нее.
4. Оценить частоту и время до прогрессирования у пациенток с распространенной формой аденокарциномы эндометрия в зависимости от состояния MMR.

Научная новизна

1. Впервые в Российской Федерации определена частота встречаемости нарушения репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (dMMR) при эндометриоидной аденокарциноме эндометрия, которая составила 31% проанализированных случаев эндометриодной аденокарциномы эндометрия.

2. Впервые выявлена особенность, что при эндометриоидной аденокарциноме средний возраст пациенток с выпадением экспрессии генов MSH2/MSH6 меньше, чем средний возраст больных с выпадением

экспрессии PMS2/MLH1 вне зависимости от распространенности основного патологического процесса.

3. Установлено, что прогностически более благоприятное течение распространённой формы эндометриоидной аденокарциномы эндометрия связано с нарушением системы репарации неспаренных нуклеотидов ДНК. Среднее значение времени до прогрессирования у пациенток с dMMR достоверно выше, чем у пациенток без dMMR.

4. Отмечено, что иммуногистохимия является более чувствительным методом в сравнении с ПЦР для отбора больных эндометриоидной аденокарциномой эндометрия, у которых высокая вероятность ответа на иммунотерапию по критерию dMMR/MSI-H.

Теоретическая и практическая значимость работы

На основе полученных результатов предложен новый подход к оценке прогностического значения состояния MMR у больных с эндометриоидной аденокарциномой эндометрия и принцип стратификации пациенток разного риска, а также разработан оптимальный алгоритм обследования и ведения пациенток из выделенных групп.

Установлена целесообразность проведения иммуногистохимического исследования PMS2/MLH1 у пациенток старшей возрастной группы больных ЭАЭ.

По результатам проведенной работы иммуногистохимическое исследование определено как предпочтительный метод для оценки предиктивного значения dMMR/MSI у больных с ЭАЭ.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Эндометриоидный рак эндометрия характеризуется высокой частотой повреждения генов репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (dMMR).

2. Иммуногистохимический метод является предпочтительным методом в определении группы больных раком эндометрия, чувствительной к иммунотерапии по критерию dMMR/MSI-H.

3. нарушения в системе репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (dMMR) связаны с прогностически благоприятным течением распространенной формы эндометриоидной аденокарциномы эндометрия и не влияют на локализованную форму рака.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности результатов исследований определяется достаточной и репрезентативной исследовательской выборкой, а также применением современных методов исследования. Методы статистической обработки полученных результатов адаптированы к поставленным задачам. Выводы, утверждения и рекомендации, сформулированные в диссертации, аргументированы и логически вытекают из системного анализа значительного числа выборок обследованных пациентов и результатов методик исследований.

Основные положения диссертационного исследования доложены на конференции Санкт-Петербургского отделения Российского общества патологоанатомов в рамках конкурса на соискание премии имени М.М. Руднева, а также на ежегодной региональной конференции с международным участием Санкт-Петербургского городского клинического онкологического диспансера «Онкология будущего».

Материалы исследования будут использоваться в учебном процессе на кафедре радиологии, хирургии и онкологии ФБГУ Российского научного центра радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова.

Результаты научных исследований по теме диссертации представлены в 8 печатных работах, из которых 4 - в журналах, рекомендованных ВАК для публикаций основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Личный вклад автора в результаты исследования

Автором независимого исследования проведен аналитический обзор литературы по изучению проблемы. Выполнен ретроспективный анализ

медицинской документации, проведен анализ результатов морфологического и иммуногистохимического исследований операционного материала. Обобщены и проанализированы результаты на статистической основе, что позволило сформулировать выводы и практические рекомендации.

Объем и структура диссертации.

Работа состоит из введения, четырех глав, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя; изложена на 113 страницах, иллюстрирована 19 рисунками и 22 таблицами. Библиографический указатель представлен 162 источниками, из них 139 – иностранных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования.

Для выполнения поставленных задач исследования отобрано 100 случаев эндометриоидной аденокарциномы эндометрия (ЭАЭ) I-IV стадии, в которых были доступны парафиновые блоки для иммуногистохимического исследования (ИГХИ). В исследование входили пациентки, которым проводилось лечение в ФГБУ «Российский научный институт радиологии и хирургических технологий им. ак. А.М. Гранова» и СПбГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер» с 2008 по 2015 гг. включительно. Диагноз был верифицирован у всех больных на основании данных клинических, инструментальных и морфологических исследований, всем больным проводилось ИГХИ в лаборатории ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова».

Проведен ретроспективный анализ 100 истории болезни, из них – 54 пациентки (1 группа), находились на лечении в ФГБУ РНЦРХТ МЗ РФ с 2008 по 2012 гг. с диагнозом рак эндометрия I-II стадии и 46 больных раком эндометрия III-IV стадии (2 группа), проходили лечение в СПбГБУЗ «ГКОД» с 2012 по 2015 гг. Получены гистологические препараты операционного материала всех случаев.

В каждом случае проведено ИГХИ, касающееся выпадения генов репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (MMR). У 35 женщин с dMMR по данным ИГХ проведено молекулярно-генетическое исследование (ПЦР) с определением MSI-статуса.

Оценка выживаемости проводилась на 31.12.2018 по данным популяционного ракового регистра. В первой группе 54% пациентов прослежены более пяти лет и 15% более 10 лет. Во второй группе 22% пациенток прослежены более пяти лет и 24% менее пяти лет.

Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакетов прикладных программ Statistica for Windows (v. 6.0 statsoft). В качестве описательной статистики использовались средние арифметические показатели и их стандартные ошибки. Количественные показатели проверялись на соответствие нормальному (Гауссовскому) распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для сравнения выборок с распределением, приближенным к нормальному, использовался критерий Стьюдента. В остальных случаях для стандартной обработки данных были использованы непараметрические методы статистики Манна–Уитни, Колмогорова-Смирнова, точный критерий Фишера и χ-квадрат с поправкой Йетса (для малых групп). Выживаемость оценивалась с помощью кумулятивной пропорциональной модели Каплана –Мейера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Наше исследование выявило дефицит системы репарации неспаренных нуклеотидов (MMR) в 31% случаев эндометриодной аденокарциномы эндометрия (ЭАЭ), а каждая третья женщина с ЭАЭ при обследовании имела синхронное выпадение экспрессии генов репарации (28%).

В группе с локализованной формой рака (1 группа) почти у 26% обследованных отмечено нарушение генов репарации. В группе с распространенной же формой рака (2 группа исследования) выпадение экспрессии генов репарации встречалось почти в 1,4 раза чаще и составило

37%. Таким образом, распространенная форма рака чаще показывала нарушение MMR (Табл.1).

Таблица 1.

Оценка частоты встречаемости выпадения экспрессии MMR генов у больных с ЭАЭ по результатам ИГХИ, n и %

Показатель	1 группа, n=54		2 группа, n=46		Всего, n=100	
	n	%	n	%	n	%
MSH2	0	0	2	4,4	2	2,0
MSH6	1	1,9	0	0	1	1,0
MSH2/MSH6	2	3,7	2	4,4	4	4,0
MSH6/PMS2	1	1,9	0	0	1	1,0
PMS2/MLH1	10	18,5	13	28,3	23	23,0
Всего с dMMR	14	25,9	17	37,0	31	31,0
без dMMR	40	74,1	29	63,0	69	69,0
ИТОГО:	54	100,0	46	100,0	100	100,0

В настоящем исследовании у 35 женщин с dMMR по данным ИГХ проведено молекулярно-генетическое исследование (ПЦР) с определением MSI-статуса. Структура MSI-статуса у пациенток групп исследования не имела существенных различий. Оценивая пациенток с ЭАЭ в целом следует отметить, что 40% имели MSI- high несколько реже - с частотой 34,3%, встречалось MSI-low, и у 25,7% выявлен MSS.

В первой группе исследования почти половина пациенток с выпадениями экспрессии генов MMR имели MSI-high (46,2%), каждая третья женщина (30,8%) – MSS и каждая четвертая (23,1%) – MSI-low. Во второй группе исследования чаще всего встречалось MSI-low (40,9%), в 36,4% случаев отмечен MSI-high и в 22,7% – MSS (Рис.1)

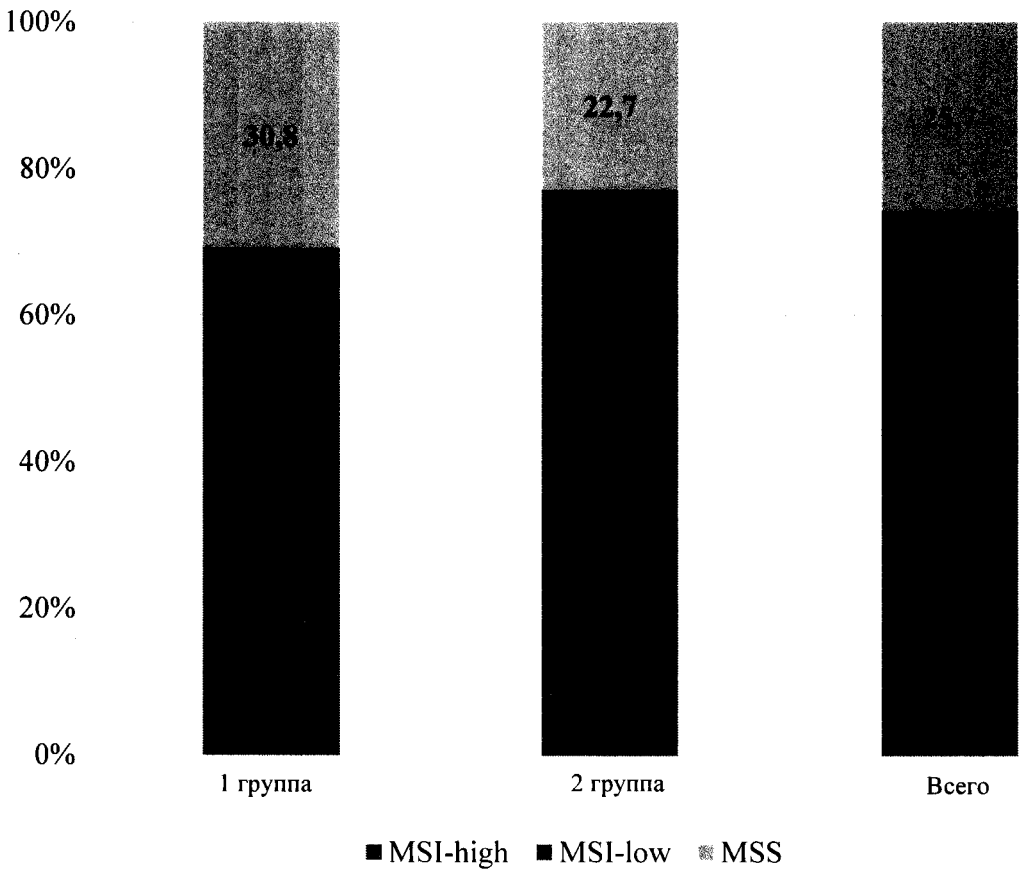
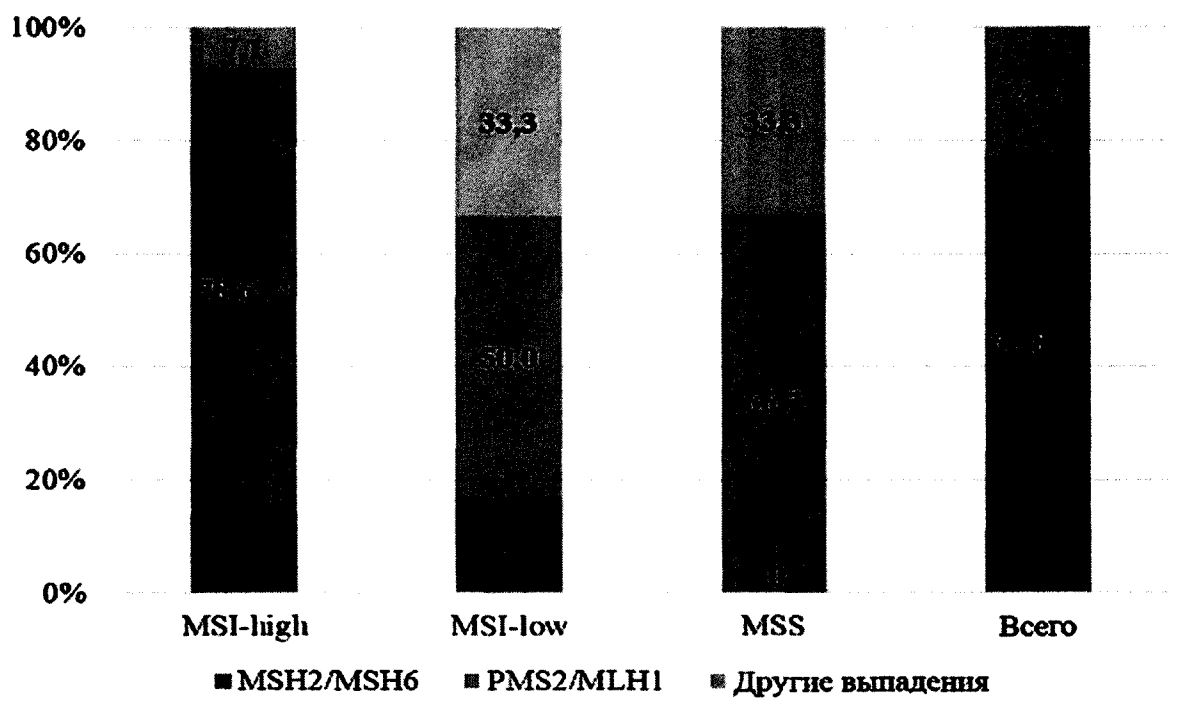


Рис. 1. Характеристика MSI-статуса у пациенток с ЭАЭ с учетом проведенного МГИ, n и %

Достоверно более высокая встречаемость MSI-low у женщин с распространенными формами ЭАЭ по сравнению с больными I группы (p=0,03).

При анализе данных MSI и MMR (Рис.2) у пациенток с ЭАЭ установлено синхронное выпадение PMS2/MLH1 и MSH2/MSH6, а также выявлено достоверно более высокая частота встречаемости выпадения PMS2/MLH1, которая составила 65,8% по сравнению с MSH2/MSH6 (22,7%). Дальнейший анализ MSI-статуса среди всех пациенток с выпадением генов репарации и сопоставление данных с результатами ИГХ исследования показал, что у 78,6% пациенток с MSI высокой степени диагностировано синхронное выпадение PMS2/MLH1. Кроме того, у 50% женщин с MSI низкой степени отмечено выпадение PMS2/MLH1. Эти данные

свидетельствует о более высокой частоте потери экспрессии PMS2/MLH1 при MSI у женщин с ЭАЭ.



Примечание: * - достоверность различий между MSH2/MSH6 и PMS2/MLH1 (p<0,05)
^ - достоверность различий между PMS2/MLH1 и Другие выпадения (p<0,05)

Рис. 2. Сопоставление исследований MSI и MMR генов у пациенток с ЭАЭ, %

При сравнении результатов оценки структуры MSS (которые свидетельствуют об отсутствии микросателлитной нестабильности) двух методов (ИГХ и ПЦР) выявлено, что у 9 женщин с диагностированной MSS по данным ПЦР отмечены изменения по результатам ИГХ, а именно в 6 - синхронное выпадение PMS2/MLH1 и в 3 случаях – выпадение MSH2/MSH6, что может свидетельствовать о большей чувствительности метода ИГХ по сравнению с ПЦР.

Следует отметить, что в группе пациенток с распространенными формами ЭАЭ было 5 женщин без микросателлитной нестабильности по результатам ИГХ и обследование с помощью МГИ установило статус MSS.

Результаты, полученные по сопоставлению данных ИГХ и ПЦР у женщин обеих групп исследования свидетельствующие о том, что у 7

(20,0%) женщин с диагностированным выпадением MMR генов по результатам ПЦР определен статус MSS. Значит, в каждом пятом случае ПЦР не позволяет диагностировать dMMR/MSI у пациенток с ЭАЭ.

Следовательно, по результатам проведенного нами исследования иммуногистохимия является более чувствительным методом для определения dMMR/MSI в аденокарциноме эндометрия.

В настоящем исследовании проведено сопоставление наличия повреждения в MMR с основными прогностическими факторами и показателями выживаемости у пациенток с ЭАЭ.

Результаты анализа при сопоставлении наличия повреждения в MMR с основными диагностическими факторами (возраст больных, степень дифференцировки опухоли) позволили выявить следующие существенные закономерности. У больных с распространенными формами ЭАЭ средний возраст с MSI составил 55,2±2,23 лет, в то время как у MSS-пациенток – 65,0±4,38 лет (p=0,05).

Возрастная характеристика пациенток групп исследования в зависимости от вида синхронного выпадения MMR показала, что средний возраст больных с выпадением экспрессии генов MSH2/MSH6 составил 42,3±4,15 года, что существенно меньше, чем в случаях с выпадением экспрессии PMS2/MLH1(60,0±1,62 лет, p<0,05). У пациенток с выпадением MSH2/MSH6 средний возраст был существенно меньше, чем у пациенток с выпадением экспрессии PMS2/MLH1. Выявленная особенность свидетельствует о том, что женщины с наличием повреждения PMS2/MLH1 относятся к более старшей возрастной группе вне зависимости от распространенности основного патологического процесса (Табл.2)

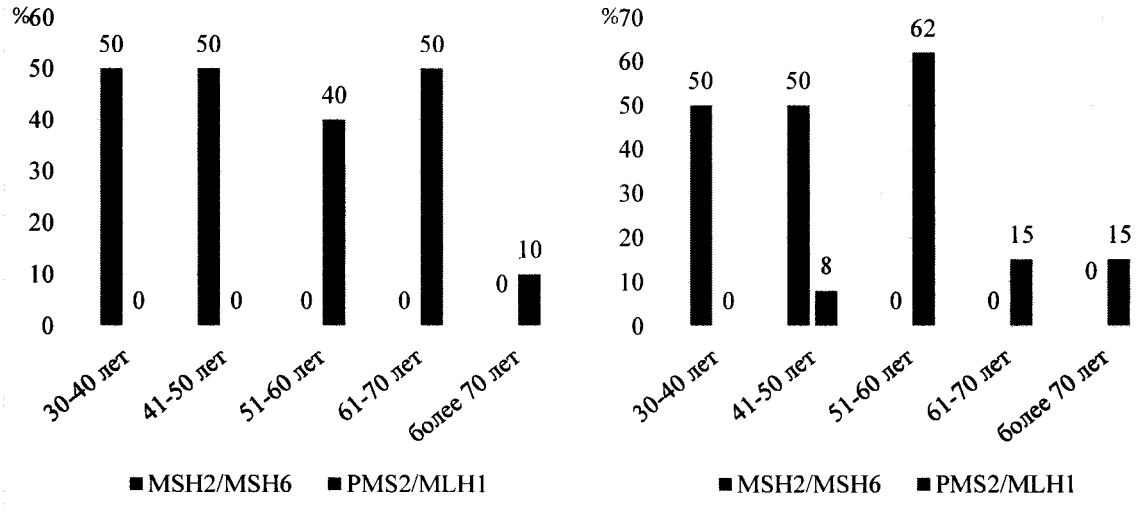
Таблица 2.

Сопоставление вида dMMR с возрастом у пациенток групп исследования, n и %

Показатель	1 группа, n=12		2 группа, n=15		Всего, n=27	
	MSH2/MSH6	PMS2/MLH1	MSH2/MSH6	PMS2/MLH1	MSH2/MSH6	PMS2/MLH1
Средний возраст, M±m, годы	**40,5±8,50**	**61,9±1,79** *	**44,0±5,00**	**58,5±2,50** *	**42,3±4,15**	**60,0±1,62** *

Примечание: * достоверность различий (p<0,05)

Сравнительный внутригрупповой анализ возрастной структуры всех пациенток групп исследования в зависимости от одновременного выпадения экспрессии генов MSH2/MSH6 и PMS2/MLH1 показал что, в 1 группе, как и во 2 группе исследования, при выпадении экспрессии MSH2/MSH6 преобладали пациентки в возрасте до 50 лет. В 1 группе в случае выпадения PMS2/MLH1 90% женщин относились к возрастному диапазону от 51 до 70 лет. Во 2 группе исследования 92% пациенток были старше 51 года, а именно 62% женщин – в возрасте 51-60 лет, 15% – 61-70 лет и 15% – более 70 лет (Рис.3).



1 группа **2 группа**

Рис.3. Внутригрупповая возрастная структура больных в зависимости от синхронного выпадения экспрессии генов MSH2/MSH6 и PMS2/MLH1, %

Характеристика наличия dMMR в зависимости от степени дифференцировки опухоли у пациенток групп исследования показала, что у обследованных больных с dMMR 45% женщин имели умеренную дифференцировку опухоли, 29% – с низкой дифференцировкой и 26% – с высокой (25,8%). Почти такое же распределение степени дифференцировки имели и женщины без dMMR – 49,3%, 23,2% и 27,5% соответственно. Внутригрупповой анализ имеющегося материала не показал наличия статистически значимых закономерностей в группах и подгруппах исследования по степени и характеру дифференцировки ЭАЭ.

Для оценки прогностической значимости MSI были взяты показатели 5-летней общей выживаемости и время до наступления рецидива или прогрессирования. Анализ показателей выживаемости пациенток групп исследования с использованием кривых Каплан-Мейера показал, что общая выживаемость существенно отличалась в группах исследования.

Вполне очевидным представляется факт полученной статистически значимой разницы показателя выживаемости между первой и второй группой исследования.

Таблица 3.

Общая 5-летняя выживаемость и частота рецидивов и прогрессирования у пациенток групп исследования в зависимости от наличия dMMR

Показатель	1 группа, n=54				2 группа, n=46				Всего, n=100			
	dMMR, n=14		без dMMR, n=40		dMMR, n=17		без dMMR, n=29		dMMR, n=31		без dMMR, n=69	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
5-летняя выживаемость	11	79,8	36	90,0	9	**53,0***	9	**31,0***	22	71,0	50	72,5
Наличие рецидива или прогрессирования	3	21,4	4	10,0	7	41,2	17	58,6	10	32,3	21	30,4

Примечание: * достоверность различий ($p<0,03$)

Результаты анализа по сопоставлению показателей 5-летней общей выживаемости и частоты наступления рецидива или прогрессирования у пациенток групп исследования в зависимости от наличия dMMR показал, что 71% женщин с dMMR и 72,5% без dMMR достигли уровня 5-летней выживаемости. Наличие рецидива или прогрессирования отмечено у 32,3% пациенток с dMMR и 30,4% без dMMR (Табл.3)

В 1 группе исследования 90,0% женщин без dMMR достигли уровня 5-летней выживаемости и рецидив отмечен только у 10,0%. В подгруппе с dMMR значения указанных показателей были несколько иные - 79,8% и 21,4% соответственно, $p>0,05$.

Во 2 группе исследования 5-ти летняя выживаемость у женщин с dMMR составила 53,0%, а в подгруппе без dMMR - 31,0%, $p<0,03$. У больных с dMMR прогрессирование отмечено в 41,2% случаев ЭАЭ, у больных без dMMR в 58,6% случаев, $p>1$.

Таблица 4.

Сопоставление наличия dMMR с показателями средней длительности безрецидивного периода или средней длительности до прогрессирования

Показатель	1 группа, n=54				2 группа, n=46				Всего, n=100			
	dMMR, n=14		без dMMR, n=40		dMMR, n=17		без dMMR, n=29		dMMR, n=31		без dMMR, n=69	
	M	m	M	m	M	M	M	m	M	m	M	m
средняя длительность безрецидивного периода /или средняя длительность до прогрессирования (мес)	82,8	7,84	93,8	4,48	**37,1***	5,54	**19,4***	1,36	58,0	6,48	69,5	5,01

Примечание: * достоверность различий (p<0,05)

Таблица 5.

Сопоставление наличия MSI с показателями средней длительности безрецидивного периода или средней длительности до прогрессирования

Показатель	1 группа, n=13				2 группа, n=22				Всего, n=35			
	MSI, n=9		MSS, n=4		MSI, n=18		MSS, n=4		MSI, n=27		MSS, n=8	
	M	m	M	m	M	M	M	m	M	m	M	m
средняя длительность безрецидивного периода /или средняя длительность до прогрессирования (мес)	82,7	9,68	75,0	15,00	**39,2***	4,99	**15,0***	3,00	53,3	6,16	44,4	13,18

Примечание: * достоверность различий (p<0,05)

Результаты анализа группы в целом (100 пациенток) по сопоставлению наличия или отсутствия dMMR с критерием средней длительности безрецидивного периода или до прогрессирования показали, что у пациенток с dMMR он составил 58,0±6,48 месяцев, а в подгруппе женщин без dMMR указанный показатель был 69,5±5,01 месяцев (Табл.4), p>0,1.

В первой группе исследования средние значения длительности безрецидивного периода в анализируемых подгруппах не имели принципиальных различий и составили, соответственно по группам – 82,8±7,84 и 93,8±4,48 месяцев (p>0,1).

Во второй группе исследования средние значения длительности времени до прогрессирования в анализируемых подгруппах составили, соответственно по группам – 37,1±5,54 и 19,4±1,36 месяцев. Различия по указанным показателям были статистически значимые и достигали уровня p<0,05.

Результаты анализа по сопоставлению MSI-статуса с показателями средней длительности безрецидивного периода или средней длительности до прогрессирования показали, что у пациенток с MSI средняя длительность безрецидивного периода или средняя длительность до прогрессирования составила 53,3±6,16 месяцев. В подгруппе женщин с MSS указанный показатель был несколько ниже и составил 44,4±13,18 месяцев. Уровня статистически значимых различий по указанным показателям не достигнуто (p>1) (Табл.5).

В первой группе исследования средние значения длительности безрецидивного периода в анализируемых подгруппах не имели принципиальных различий и составили, соответственно по группам – 82,7±6,98 и 75,0±15,00 месяцев, уровня статистически значимых различий достигнуто не было, p>0,1.

Во второй группе исследования средние значения длительности времени до прогрессирования в анализируемых подгруппах составили,

соответственно – 39,2±4,99 и 15,0±3,00 месяцев, различия по указанным показателям были статистически значимые, p<0,05.

Оценка показателя общей выживаемости у пациентов групп исследования в зависимости от наличия dMMR свидетельствует об отсутствии статистически значимой разницы в выживаемости пациенток при сравнении в зависимости от наличия dMMR. Пациентки с dMMR имели показатели 5-летней общей выживаемости существенно не отличающиеся, от женщин без dMMR, p>0,05 (Рис.4).

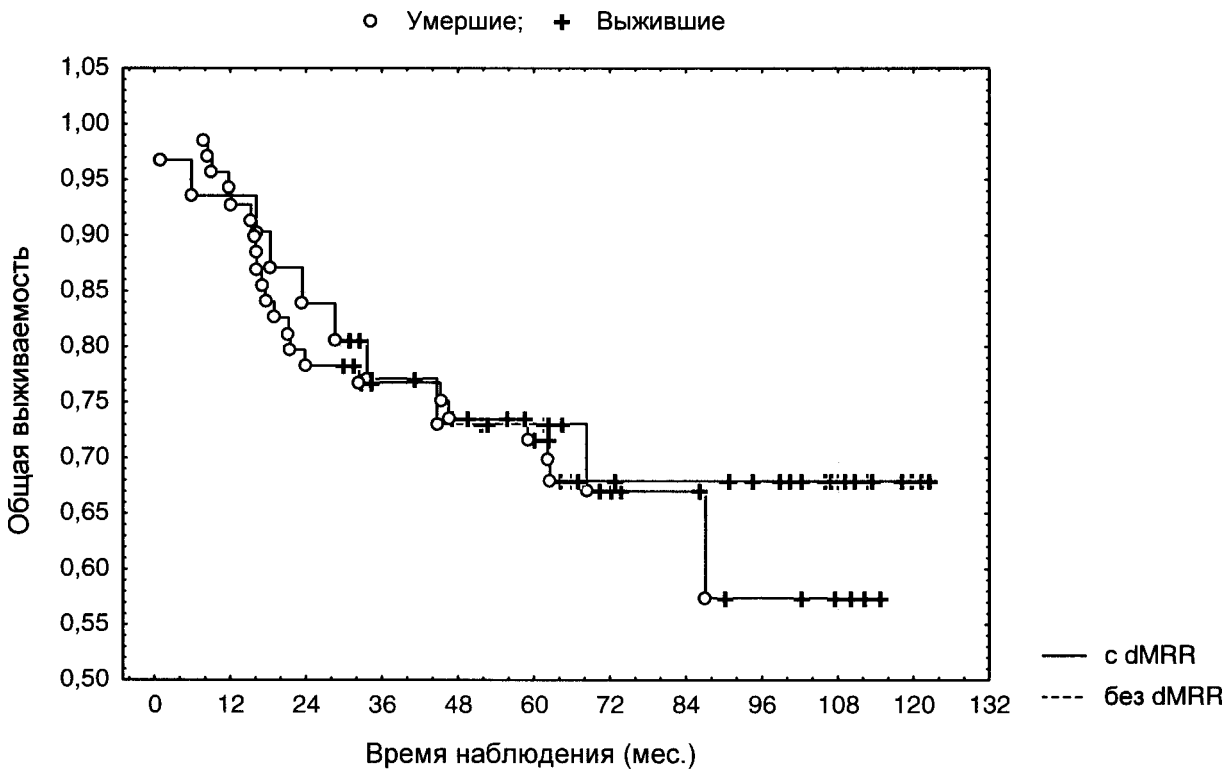


Рис. 4. Кривые общей выживаемости пациентов групп исследования в зависимости от наличия dMMR, n=100

Оценка показателя общей выживаемости у пациентов 1 группы исследования в зависимости от наличия dMMR свидетельствует об отсутствии статистически значимой разницы в показателях 5-летней общей выживаемости у пациенток 1 группы исследования в зависимости от наличия dMMR, p>0,05 (Рис.5)

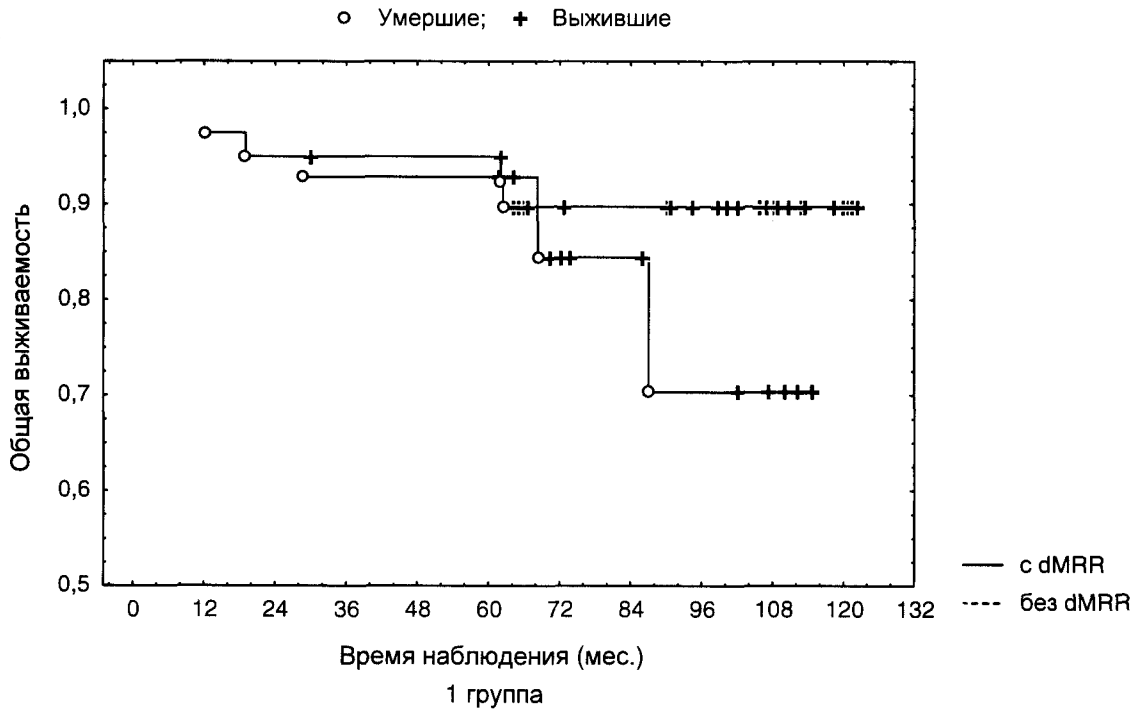


Рис. 5. Кривые общей выживаемости пациентов 1 группы исследования в зависимости от наличия dMMR, n=54

Оценка показателя общей выживаемости у пациентов 2 группы исследования в зависимости от наличия dMMR показал наличие статистически значимых различий между подгруппами исследования ($p<0,03$) (Рис.6).

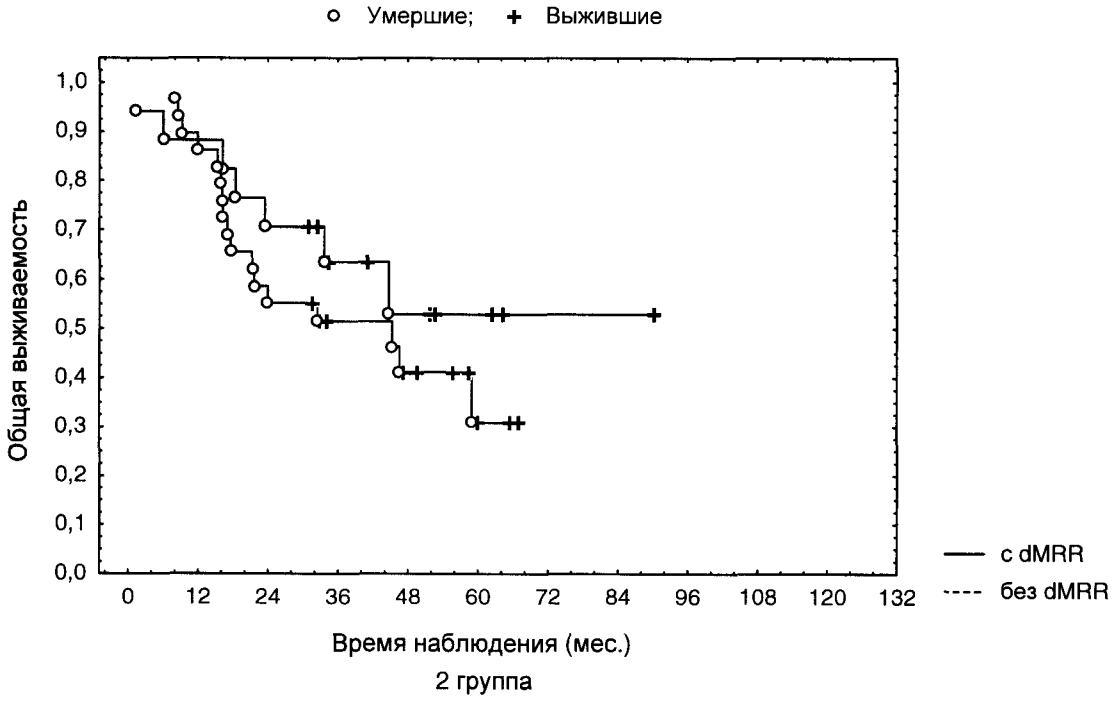


Рис. 6. Кривые общей выживаемости пациентов 2 группы исследования в зависимости от наличия dMMR, n=46

Оценка показателя общей выживаемости у пациенток групп исследования в зависимости от MSI-статуса был аналогичным таковому у пациенток с dMMR.

Результаты анализа показали, что у пациенток с распространёнными формами ЭАЭ, имеющими dMMR, время до прогрессирования значительно больше чем у пациенток без dMMR. Так же выявлено, что у пациенток второй группы без dMMR риск развития прогрессирования достоверно выше, при этом OR = 2,02.

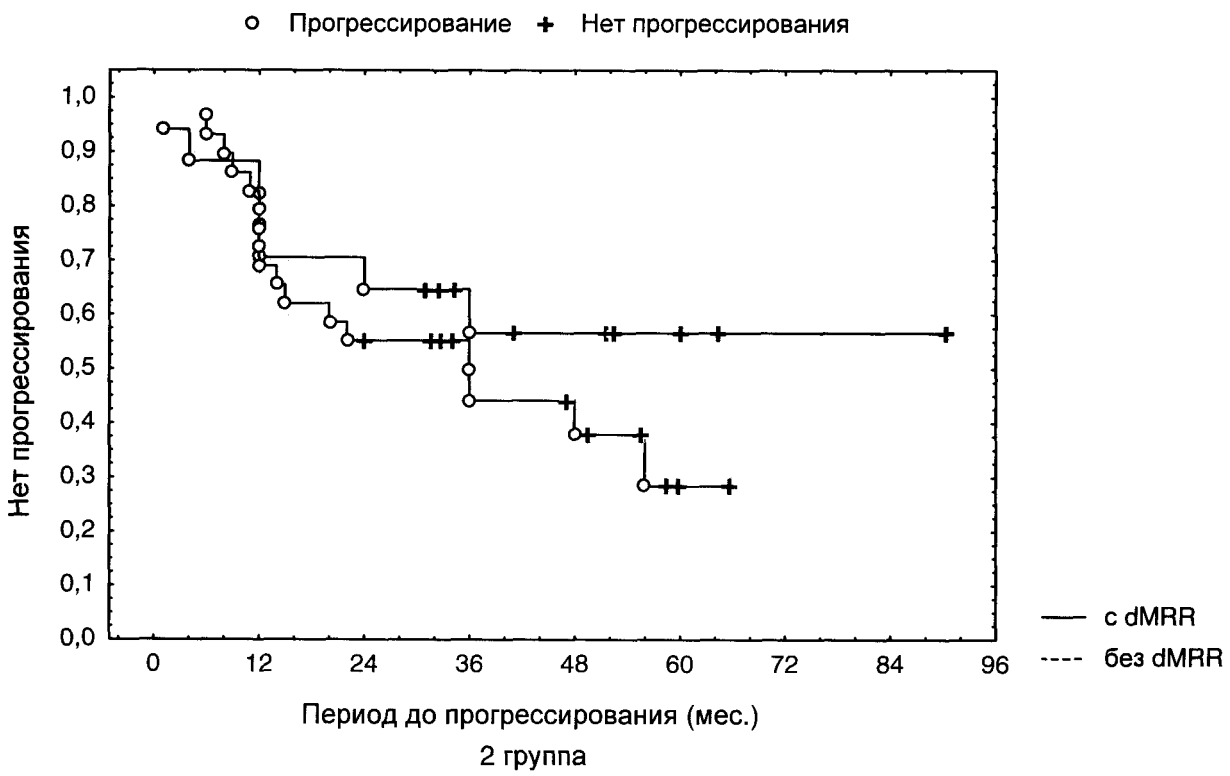


Рис. 7 Кривые выживаемости без прогрессирования у пациентов 2 группы исследования в зависимости от наличия dMMR, n=46

Обращает на себя внимание достаточно высокая частота встречаемости dMMR в диссеминированной группе, которая составила 37,0%. Публикации последних лет свидетельствуют, что MMR дефицитные опухоли показывают хороший ответ на иммунотерапию в независимости от гистологического типа и локализации опухоли.

Таким образом, проведенное исследование показало убедительные данные, доказывающие большие диагностические возможности метода ИГХ по сравнению с ПЦР. Отмечена достаточно высокая частота встречаемости нарушения системы репарации неспаренных нуклеотидов ДНК у женщин с ЭАЭ, при этом характерным было синхронное выпадением экспрессии генов репарации.

Определение дальнейших молекулярных особенностей этих опухолей поможет выделить подгруппы больных, которые, вероятно, будут по-разному отвечать на ХТ. В заключение следует отметить, что MSI, как отражение нарушений в системе репарации неспаренных оснований ДНК, является одним из многообещающих маркеров, изучаемых в настоящее время.

ВЫВОДЫ

1. Эндометриоидная аденокарцинома эндометрия характеризуется высокой частотой нарушения репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (dMMR) (31% случаев).
2. Установлено, что средний возраст пациенток с выпадением экспрессии генов MSH2/MSH6 меньше, чем средний возраст больных с выпадением экспрессии PMS2/MLH1 вне зависимости от распространенности основного патологического процесса (42,3±4,15 и 60,0±1,62 лет, соответственно, где $p<0,05$).
3. Локализованная форма эндометриоидной аденокарциномы является прогностически благоприятной, на течение которой не влияет состояние репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (5-летняя общая выживаемость с dMMR –79,8%, без dMMR – 90,0%).
4. Прогностически более благоприятное течение распространенной формы эндометриоидной аденокарциномы связано с нарушением системы репарации неспаренных нуклеотидов ДНК: 5-летняя общая выживаемость пациентов с dMMR составила 53,0%, а без dMMR – 32,2%, $p<0,03$. Период до прогрессирования у пациенток с

распространенной формой эндометриоидной аденокарциномы достоверно выше у пациенток с dMMR в отличии от пациенток без dMMR (37,1±5,54 и 19,4±1,36 месяцев соответственно), $p<0,05$.

5. Состояние репарации неспаренных нуклеотидов ДНК не влияет на степень дифференцировки эндометриоидной аденокарциномы. У больных с dMMR 45% женщин имели умеренную дифференцировку опухоли, 29% – низкую дифференцировку и 26% – высокую (25,8%). Такое же распределение степени дифференцировки имели и женщины без dMMR – 49,3%, 23,2% и 27,5% соответственно, $p>0,1$.

6. Иммуногистохимический метод является более чувствительным методом в сравнении с ПЦР для отбора больных эндометриоидной аденокарциномой эндометрия, у которых высокая вероятность ответа на иммунотерапию по критерию dMMR/MSI-H (31% по данным ИГХ и 23% по данным ПЦР).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:

1. Для выявления dMMR/MSI-H при эндометриоидной аденокарциноме эндометрия рекомендуется использовать иммуногистохимию как более чувствительный метод по сравнению с ПЦР.
2. В старшей возрастной группе (>50 лет) для выявления dMMR при эндометриоидной аденокарциноме возможно исследование только PMS2 и MLH1, так как дефекта MSH6 и MSH2 в данной возрастной группе не наблюдается.

РАБОТЫ, ОПУБЛИКОВАННЫЕ ПО ТЕМЕ:

1. **Чам, К.Г. Опыт применения анти-PD-1 терапии при MMR-дефицитном раке эндометрия / Чам К.Г., Г.А. Раскин, Т.Т. Андабеков, М.К. Родина, И.О. Руткин, Д.М. Кондрачук, В.Л. Винокуров // Злокачественные опухоли. - Москва. – 2018. -С. 60-62.**

2. Гелбутовская, С.М. Алгоритм ультразвукового исследования в мультипараметрической диагностике рака тела матки / Гелбутовская С.М., Минько Б.А., Винокуров А.Л., **Чам К.Г.** // Конгресс молодых ученых «Актуальные аспекты фундаментальной и клинической медицины». - Томск. – 2018. - С.195-196.

3. **Чам, К.Г. Современные представления о диагностической и прогностической значимости микросателлитной нестабильности у больных раком эндометрия / Чам К.Г., Г.А. Раскин, С.М. Гелбутовская // Современная наука. Естественные и технические науки». - Москва. - 2018. - №11. - С.200-204.**

4. Гелбутовская, С.М. Опыт применения современных ультразвуковых методик в диагностике рака тела матки / Гелбутовская С.М. Минько Б.А., Винокуров А.Л., **Чам К.Г.**// XI Невский радиологический форум. - Санкт-Петербург. - 2019.

5. **Чам, К.Г.** Рак эндометрия. Диагностическая и прогностическая значимость микроссателитной нестабильности // IV международная, межведомственная научно-практическая конференция, посвященная 60-летию профессора С.Б. Пономарева, «Пенитенциарная медицина в России и за рубежом». – Ижевск. - 2019.

6. **Чам, К.Г. Результаты исследования диагностической и прогностической значимости микросателлитной нестабильности у больных раком эндометрия/ Чам К.Г. Г.А. Раскин, В.Л. Винокуров// «Современная наука. Естественные и технические науки». - Москва. - 2019.-№8.- С.208-214.**

7. **Чам, К.Г.** Результаты исследования диагностической и прогностической значимости микросателлитной нестабильност у больных раком эндометрия/ **Чам К.Г.** Г.А. Раскин, В.Л. Винокуров, А.С. Лисянская// Научная практическая конференция с международным участием «ОНКОЛОГИЯ БУДУЩЕГО». Сборник тезисов. - Санкт-Петербург. - 2019.- №8.- С.208-214.

8. Андабеков, Т.Т. Успешный опыт лечения метастатического рака эндометрия с микросателлитной нестабильностью ингибитором PD-1: клинический случай/ Т.Т. Андабеков, М.К. Родина, Г.А. Раскин, К.Г. Чам, И.О. Руткин// «Опухоли женской репродуктивной системы». - Москва. - 2019.-№1.- С.73-77.

Список сокращений

АЭ –аденокарцинома эндометрия
ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота
ИГХИ – иммуно-гистохимическое исследование
КРР – колоректальный рак
МГИ – молекулярно-генетическое исследование
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РТК – рак толстого кишечника
РТМ – рак тела матки
РЭ – рак эндометрия
ЭАЭ – эндометриоидная аденокарцинома эндометрия
ESGO – European Society of Gynaecological Oncology (Европейское общество онкогинекологии)
ESMO – European Society for Medica lOncology (Европейское общество медицинской онкологии)
ESTRO – European Society for Radiotherapy & Oncology (Европейское общество радиотерапии и онкологии)
FDA – Food and Drug Administration (Управление по санитарному надзору за качеством продуктов и медикаментов США)
FIGO – The International Federation of Gynecology and Obstetrics (Международная федерация гинекологии и акушерства)

IARC - International Agency for Research on Cancer (Международное агентство исследования рака)

MMR – Mismatch repair (гены репарации неспаренных нуклеотидов ДНК)
dMMR – нарушение в системе репарации неспаренных нуклеотидов ДНК.

MSI – Microsatellite instability (Микросателлитная нестабильность)
NCCN- National Comprehensive Cancer Network (Национальная онкологическая сеть США)

TCGA - The Cancer Genome Atlas (Атлас ракового генома)

TNM – Tumor, Nodus, Metastasis (Международная классификация стадий злокачественных новообразований)
UICC – International Union against cancer (Международный противораковый союз)