ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«РОССИЙСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РАДИОЛОГИИ И ХИРУРГИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ ИМЕНИ АКАДЕМИКА А.М. ГРАНОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Чам Карине Гургеновна

ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ

14.01.12 – онкология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук
Г.А. Раскин
Научный консультант:
Заслуженный деятель науки РФ
доктор медицинских наук
профессор В.Л. Винокуров

Санкт-Петербург – 2020

Оглавление

Оглавление 2
Список сокращений 3
ВВЕДЕНИЕ 4
ГЛАВА 1 10
АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) 10
1.1. Эпидемиология рака тела матки 10
1.2. Морфологические варианты рака тела матки 13
1.3. Молекулярная классификация рака тела матки 17
1.4. Варианты лечения рака тела матки 29
ГЛАВА 2 38
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 38
2.1. Общая характеристика больных 38
2.3. Характеристика методов исследования 46
2.4. Статистическая обработка данных 50
Глава 3 51
ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ НЕСПАРЕННЫХ НУКЛЕОТИДОВ ДНК ПРИ ЭНДОМЕТРИОИДНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЕ ЭНДОМЕТРИЯ 51
3.1. Оценка частоты встречаемости нарушения системы репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (dMMR) и характеристика MSI-статуса у обследованных больных с ЭАЭ 51
3.2. Сопоставление наличия повреждения в MMR с основными прогностическими факторами и показателями выживаемости у пациенток с ЭАЭ 57
ГЛАВА 4 82
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ 82
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 90
ВЫВОДЫ 91
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 93
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 94

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)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

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 [19,139].

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 [16] 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 большое влияние на понимание природы и прогрессии РЭ. Одним из геномных нарушений, выявляемых при РЭ, являются изменения в повторяющихся последовательностях ДНК, так называемых микросателлитах. Эти нарушения отражают различные повреждения в

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

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 FDA, а в марте 2019 года Минздрав РФ зарегистрировали 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 [44], другие – об отсутствии связи между наличием MSI и прогнозом течения заболевания [161], третьи – о благоприятном клиническом течении РЭ с MSI [36].

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% [53].

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 распространённой формой аденокарциномы эндометрия в зависимости от состояния MMR.

Степень разработанности темы исследования

В Российской Федерации не проведено комплексных клинических исследований по данной теме. С точки зрения выживаемости, классическими прогностическими факторами являются стадия заболевания, степень дифференцировки опухоли и др. [40]. В настоящее время благодаря активному внедрению метода иммуногистохимии было получено достаточно данных по определению клинической значимости экспрессии генов репарации неспаренных нуклеотидов ДНК: MSH2, MSH6, MLH1, PMS2 у больных раком толстого кишечника [117,100]. Тем не менее, пока не сделано

выводов о влиянии этих маркеров и их комбинации на выживаемость пациентов с РЭ. В отечественной и зарубежной литературе мало исследований по комплексному клинико-генетическому изучению прогностических и предиктивных факторов ЭАЭ, а также по оценке влияния этих маркеров и их комбинации на показатели выживаемости.

Научная новизна

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.

Впервые выявлено: что при эндометриоидной аденокарциноме эндометрия 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.

Впервые 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 больше, чем у пациенток без dMMR.

Впервые 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. Иммуногистохимия 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.

Апробация и внедрение результатов исследования

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».

Результаты научных исследований по теме диссертации представлены в восьми печатных работах, из которых четыре - в журналах,

рекомендованных ВАК для публикаций основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Материалы исследования будут использоваться в учебном процессе на кафедре радиологии, хирургии и онкологии ФГБУ «РНЦРХТ им ак. А.М. Гранова».

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.

ГЛАВА 1

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Эпидемиология рака тела матки

РТМ представляет собой большую клиническую и социально-экономическую проблему, являясь одним из самых распространенных онкологических заболеваний женских гениталий [43]. Во многих странах мира, в том числе экономически развитых, заболеваемость РТМ за последние годы приобрела выраженную тенденцию к росту [42]. Данные официальной статистики свидетельствуют о том, что число вновь выявленных случаев данного заболевания за последние несколько десятков лет увеличилась более чем в 2 раза [5]. Кроме того, вызывают беспокойство сведения о том, что результаты лечения подобных больных во многих регионах остаются неудовлетворительными, а использование новых технологий хирургического лечения, включая активное развитие и внедрение в практику эндовидеохирургии, не улучшили отдаленные результаты лечения [3].

В структуре онкогинекологической патологии РТМ занимает первое место, в отличии от рака шейки матки; эта ситуация может быть связана с «глобальной эпидемией» ожирения [128,140,143,155].

Доля РЭ среди всех злокачественных новообразований у женщин в мире составляет 4,8% [64,143]. Так, в 2012 году по данным мировых статистических отчетов было диагностировано 320 000 новых случаев РТМ, более того, 53% приходилось на развитые страны. В Европе и Северной Америке РЭ является самой распространенной патологией в онкогинекологии, занимая 7-е место среди всех причин смертности от

злокачественных новообразований в Западной Европе. Динамика роста заболеваемости продолжает сохраняться стабильной. Примерно 90% женщин заболевает в возрасте старше 50 лет, а средний возраст заболевших пациенток составляет 60 лет [30].

Европейское общество медицинской онкологии (ESMO) связывает показатель 5-летней выживаемости порядка 75% при РЭ как результат диагностики данного заболевания на ранних стадиях, из-за относительно раннего появления клинических симптомов в виде «нерегулярных» маточных кровотечений. При этом ESMO указывает, что у 75% женщин болезнь диагностируется при вовлечении в патологический процесс только тела матки (I стадия) и 5-летняя выживаемость при I стадии болезни составляет 90%. Большинство случаев РЭ диагностируется в менопаузальном периоде, однако в 25% случаев встречается и в пременопаузе [51]. Поэтому для активного выявления РТМ принято начинать профилактические осмотры женщин с возраста старше 50 лет, поскольку именно в этом возрастном периоде нарастает частота эндокринных, обменных нарушений, а также «груз» генетических мутаций, играющих немаловажную роль в патогенезе данного заболевания.

В Российской Федерации также отмечается тенденция к увеличению числа больных РТМ, так в 2013 году этот показатель составил 220,5 тысяч, что в 2,1 раза больше, чем в 1993 г. (105,8 тыс.) [5]. Статистические данные 2015 года свидетельствуют о том, что уровень заболеваемости РЭ составил 166 человек на 100 000 населения, что вывело РЭ на 3-е место [16].

Продолжают оставаться тревожными данные статистики по смертности от РТМ за этот же период. Так, показатели смертности от РТМ существенно не претерпели изменений, в то время как в арсенале стандартов оказания помощи больным имеются почти все методы лечения: хирургический, лучевой, гормоно- и химиотерапия [5,30,43,56,59,86,118].

Растущую заболеваемость РЭ нельзя объяснять только увеличением средней продолжительности жизни, следует учитывать и прогрессирующий рост болезней цивилизации [16].

Одной из стандартных процедур в клинической практике является оценка факторов риска. Для своевременного выявления больных с гиперпластическими процессами эндометрия необходима объективная оценка риск-факторов и разработка модели прогноза онкологического риска. Исследователями в качестве факторов риска данной патологии рассматриваются [133,145,146,154,157]:

- эндокринно-обменные нарушения: ожирение, сахарный диабет, гипертоническая болезнь (гипертоническая болезнь часто сопровождает ожирение, но является независимым фактором);
- гормонально-зависимые нарушения функции женских половых органов (гиперэстрогения);
- гормонально активные опухоли яичников: гранулёзотекаклеточная опухоль и опухоль Бреннера в 20 % случаев сопровождаются раком эндометрия;
- синдром Штейна-Левенталя: у молодых женщин (до 45 лет) сочетание с РЭ отмечается более чем в 30 % случаев;
- генетическая предрасположенность, отягощенная наследственность по раку молочной железы, яичников и тела матки;
- отсутствие половой жизни, беременностей, родов;
- позднее наступление менопаузы (в возрасте старше 55 лет);
- гормональная терапия (тамоксифеном по поводу лечения рака молочной железы);
- колоректальный рак (КРР) у близких родственников и Синдром Линча: относится к заболеваниям, наследуемым по аутосомно-доминантному типу и составляет 3% всего КРР.

Оценка факторов риска и определение объема необходимого лечения лежит в основе практически всех скриниговых программ ранних стадий РЭ и

предрака. Крайне важным в программе скрининга является выделение группы высокого риска заболевания [155].

1.2. Морфологические варианты рака тела матки

Основной патогенетической классификацией злокачественных опухолей эндометрия в настоящее время является, так называемая, дуалистическая модель, предложенная еще J. Bokhman в 1983 г., которая определяет следующее деление [4]:

Тип I – как правило, эндометриоидные опухоли, ассоциированные с воздействием эстрогенов, возникающие на фоне гиперплазии эндометрия. Факторами риска являются: ожирение, отсутствие беременности и родов, лечение эстрогенами. Опухоли экспрессируют рецепторы к эстрогену и прогестерону. Клинически это высокодифференцированные опухоли, характеризующиеся благоприятным прогнозом.

Тип II – данные опухоли представлены неэндометриоидными, низкодифференцированными, морфологически – серозными или светлоклеточными карциномами, как правило, развивающимися на фоне атрофии эндометрия. Этот тип карцином не связан с воздействием эстрогенов, следовательно, гормональные факторы риска не являются ведущими в патогенезе; клинически характеризуется более агрессивным течением, высоким риском метастазирования, неблагоприятным прогнозом [96].

Важное практическое значение имеет определение клеточного состава опухолей. Для прогноза и определения тактики лечения в клинической практике активно используется **Международная гистологическая классификация**, которая создает детализацию морфологической структуры,

характеризующую степень злокачественности [95]. Согласно существующей классификации выделяют:

Злокачественные эпителиальные опухоли:

- Эндометриоидная аденокарцинома (код 8380/3)
  - Вариант с плоскоклеточной метаплазией (код 8580/3)
  - Аденопапипиллярный вариант (код 8262/3)
  - Секретирующий вариант (код 8382/3)
  - Реснитчатый вариант (код 8383/3)
- Муцинозная аденокарцинома (код 8480/3)
- Серозная аденокарцинома (код 8441/3)
- Светлоклеточная аденокарцинома (код 8310/3)
- Смешанная аденокарцинома (код 8310/3)
- Плоскоклеточный рак (код 8070/3)
- Переходноклеточный рак (код 8120/3)
- Мелкоклеточный рак (код 8041/3)
- Недифференцированный рак (код 8020/3)

Злокачественные мезенхимальные опухоли:

- Эндометриальная стромальная саркома низкой степени злокачественности (код 8931/3)
- Недифференцированная саркома эндометрия (код 8930/3)

Злокачественные гладкомышечные опухоли:

- Леймиосаркома (код 8890/3)
  - Эпителиоидный вариант (8891/3)
  - Микстоидный вариант (8896/3)

Смешанные эпителиальные и мезенхимальные опухоли:

- Карциносаркома (код 8990/3)
- Аденосаркома (код 8933/3)

Одним из существенных факторов прогноза выживаемости больных РТМ является степень дифференцировки эндометрия. В зависимости от гистологической дифференцировки выделяют следующие степени

аденокарциномы эндометрия (АЭ): G1 – высокодифференцированная; G2 – умереннодифференцированная; G3 – низкодифференцированная или недифференцированная.

Онкологический комитет FIGO, начиная с 1988 года, рекомендует для верификации стадии АЭ только хирургическое стадирование, которое определяют по результатам интраоперационной ревизии. «Стадирующая лапаротомия» при РТМ заключается в обязательном выполнении следующего алгоритма:

I. Нижнесрединная лапаротомия с обходом пупка слева. При достаточном опыте и наличии подготовленных специалистов допускается малоинвазивный доступ;
II. Взятие смывов из брюшной полости и малого таза;
III. Тщательная ревизия органов брюшной полости: большой сальник, печень, латеральные каналы, поверхность придатков матки должны быть исследованы на предмет наличия возможных метастазов, пальпация и определение всех увеличенных лимфатических узлов в малом тазу и парааортальной области;
IV. Глубина инвазии в миометрий определяется визуально, после разреза удаленной матки, которая затем отражается в протоколе операции. Идеальным является определение толщины миометрия отдельно от глубины инвазии опухоли;
V. Как минимум должны быть удалены все увеличенные или подозрительные лимфатические узлы у всех пациентов;
VI. Низкая степень дифференцировки, глубокая инвазия в миометрий, распространение на цервикальный канал, серозный или светлоклеточный гистологический вариант являются прямым показанием к полному удалению регионарных лимфатических узлов, а также всех увеличенных парааортальных лимфатических узлов.

Результаты гистологического исследования интерпретируют с использованием классификации TNM FIGO (2009 г.) или UICC (7-й пересмотр, 2009 г.), представленную в таблице 1 [69].

Таблица 1

Классификационные типы рака эндометрия

Показатель	**I тип рака эндометрия**	**II тип рака эндометрия**
Гормональный статус	Эстрогензависимый	Эстрогеннезависимый
Гистологическое строение	Эндометриоидная аденокарцинома	Светлоклеточная, серозная, карциносаркома матки
Факторы риска	Молодые женщины, ожирение, перименопауза	Старший возраст, дефицит массы тела, постменопауза
Распределение	85%	15%
Прогноз	Более высокая дифференцировка	Низкая дифференцировка, более высокая смертность.
Генетические изменения	Kras, PTEN, MLH1	p53, erbB2

Проведенная выше классификация обоснована обнаруженными молекулярными детерминантами. Опухоли, отнесенные к типу I наиболее часто ассоциированы с мутациями ДНК генов K-ras, MSI, потерей экспрессии PTEN, в то время как опухоли, отнесенные ко второму типу – с аномалиями гена p53 и HER2/neu. Мутационный фон для обоих вариант РЭ наиболее часто характеризуется наличием изменений в онкогенах K-ras, p53, p16, генах β-катенина, гиперэкспрессией HER-2/neu, снижением или отсутствием экспрессии в генах PTEN и E-кадгерина [133].

Однако ряд исследований последних лет показали важные результаты по иммуногистохимическому и/или мутационному профилю [50,71,72,73,108,109,135].

В последующих исследованиях молекулярные данные использовались для дальнейшей стратификации категорий риска, уделяя большое внимание достижению терапевтических целей [92,115,140,158,159].

1.3. Молекулярная классификация рака тела матки

Значительный прогресс в понимании механизмов канцерогенеза связан с открытием сначала онкогенов и протоонкогенов, а затем – опухолевых супрессоров и, так называемых, мутаторных генов.

Согласно мнению ряда исследователей, на сегодняшний день актуальной представляется ранняя диагностика РТМ. В настоящее время, морфологическая классификация не всегда достаточна на стадии предраковых изменений, а также как и для прогнозирования степени риска рецидива. Внедрение классификации, основанной на молекулярных характеристиках опухолей, позволит разрабатывать индивидуальные схемы лечения и в частности, повысить эффективность терапии онкологических больных. Современные методы изучения структуры ДНК, в том числе кластерный анализ, дают возможность определить генетический профиль опухолей, который может не совпадать с морфологической картиной [76,78,149].

В TCGA (Атлас ракового генома) была описана молекулярная подгруппа микросателлитной нестабильности и предложена молекулярная классификация (Рис.1), которая была призвана дополнить существующие морфологические и клинические данные с выделением четырех прогностических подгрупп [150,151,152,154].

Следует отметить, что одной из характеристик молекулярной классификации является определение прогностического риска при каждом из видов мутаций [106].

Прогностическая значимость молекулярной классификации TCGA подтверждена исследователями Ванкувера и Голландским рандомизированным исследованием (PORTEC) на больших когортных данных [145,146,150,151].

Пациенты с POLE-мутацией имели прогноз с коэффициентом риска (HR) 0,15 для безрецидивной выживаемости, тогда как в группе больных с мутацией p53abn HR составил 1,64. Обращает на себя внимание и полученные HR по локальному рецидивированию, риск которого у женщин с p53-мутацией был существенно выше [150].

Результаты, полученные в исследовательских группах, показывают, что расчетные коэффициенты имеют характер независимого прогностического значения и, что важно, прогностическая способность этих новых переменных далее становится более точной в результате их интеграции с существующими клиникопатологическими изменениями [145,146,151,152].

Особая прогностическая ценность молекулярной классификации показана для категории женщин с «высоким уровнем промежуточного риска», критериями которого являются:

- Степень дифференцировки G3;
- Глубокая инвазия в миометрии – стадия FIGO 1B;
- Вовлечение лимфоваскулярного пространства;
- Положительные перитонеальные смывы;
- Серозно-папиллярныи рак;
- Светлоклеточныи рак;
- Переход на цервикальный канал – стадия II.

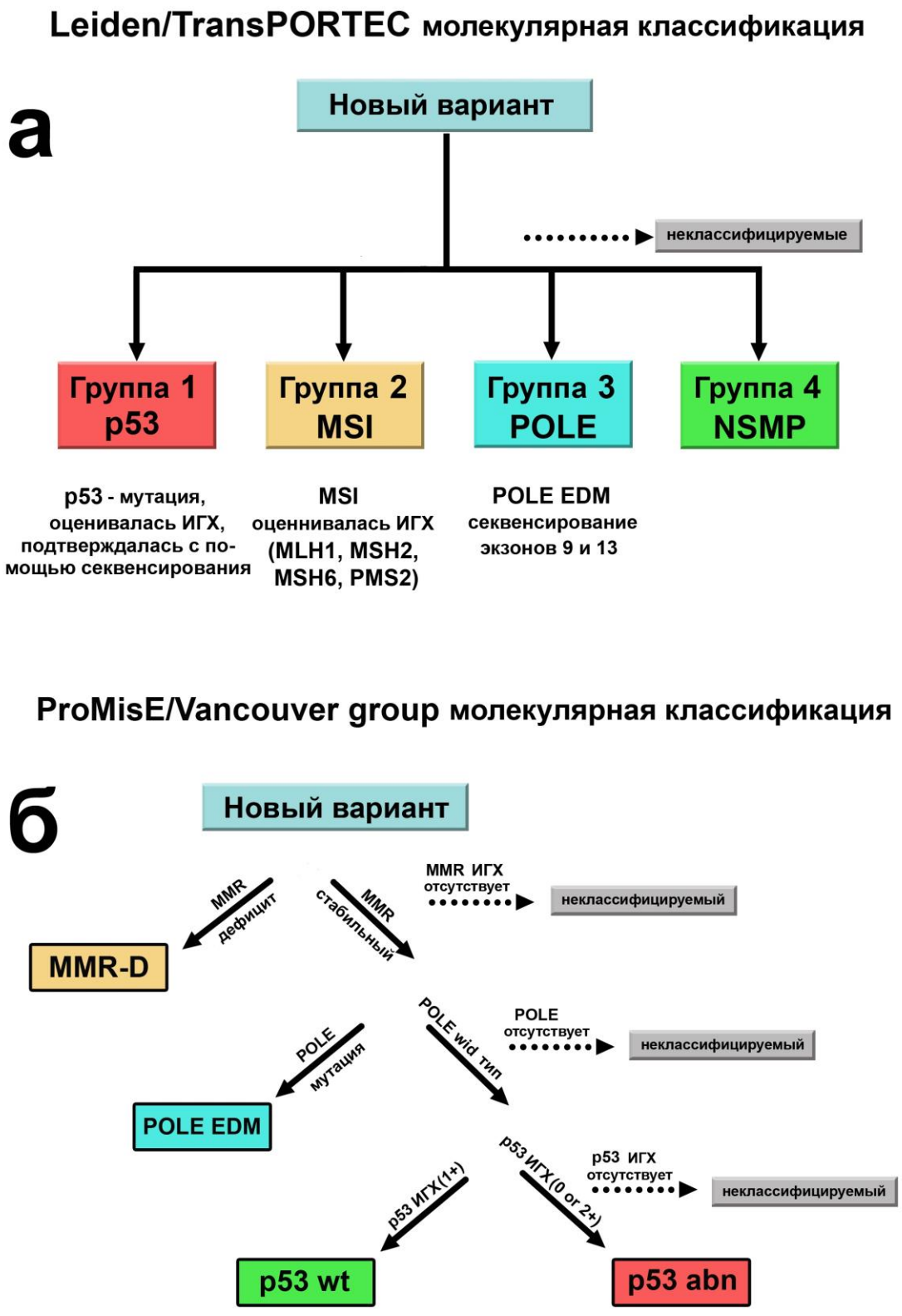


Рис. 1. Ванкуверская система молекулярной классификации, включающая определение молекулярных подгрупп

N. Bansal и соавт. в рамках обзора различных исследований, дают подробную характеристику генетических изменений, характерных для каждого из двух морфологических типов опухолей [34]. Так, эндометриоидные неоплазии характеризуются множеством альтераций, наиболее частая из которых мутация гена PTEN [28,121,144].

Как известно, продукт гена PTEN – онкосупрессор, основной функцией которого является регуляция жизнедеятельности клетки за счет остановки клеточного цикла в фазе G1/S, ингибирования миграции и адгезии клеток, а также ингибирования факторов роста, стимулирующих каскад митогенактивируемых протеинкиназ (МАПК). Кроме того, с помощью PTEN осуществляется регуляция про- и антиапоптотических механизмов, в том числе контроль фактора BCL-2 [121]. Таким образом, инактивация гена PTEN приводит к неконтролируемому клеточному росту и «уходу» клетки от апоптоза. Кроме того, инактивация гена PTEN происходит на ранних этапах канцерогенеза предположительно в ответ на воздействие гормональных факторов.

Другой генетической альтерацией данного типа опухолей является MSI. В опухолевых клетках появляются дополнительные аллели микросателлитов, варьирующих локусов ДНК, состоящих из повторяющихся фрагментов и образующих в результате нарушений репликации ДНК. Как правило, причиной этого является инактивация MLH1, отвечающего за репарацию ДНК, связанную с гиперметилированием участка CpG в промотере. MSI также представлена на ранних этапах канцерогенеза [34,48].

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 имеются данные о чувствительности опухолей с MSI к иммунотерапии [6].

Имеются достаточно противоречивые данные о прогнозе течения заболевания 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 заболевания, третьи – о благоприятном клиническом течении РЭ с MSI [36,44,157,162].

Особый интерес вызывают исследования по изучению MSI при синдроме Линча, доказавшие, что MSI в этом случая 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%, а в структуре этиологии РТМ наследственные формы составляют 2-3% [54].

Синдром Линча (наследственный неполипозный КРР) генетически обусловленное заболевание, при котором наблюдается повышение риска развития КРР и злокачественных новообразований некоторых других локализаций, в том числе рака эндометрия [97].

Причиной синдрома Линча являются наследственные инактивирующие мутации генов, ответственных за репарацию ошибок комплиментарности ДНК (Mismatch Repair – MMR): PMS2, MSH6, MSH2 и MLH1. Однако на сегодняшний день достоверно известно, что наследственно-обусловленные опухоли кишечника и эндометрия имеют особые биологические характеристики. В связи с несостоятельностью системы репарации ДНК для данных опухолей характерна повышенная в несколько раз мутагенность. Накопление мутаций происходит в том числе и в особых участках генома – микросателлитах, что приводит к MSI [33].

Кроме того, MSI бывает наследственной в следствии мутаций в генах MMR, она также может быть и спорадической. В большинстве случаев спорадическая MSI обусловлена гиперметилированием промотора гена MLH1, что приводит к отсутствию его экспрессии и, как следствие дефициту MMR. Спорадическая MSI встречается при РЭ гораздо чаще чем наследственная и составляет до 30% случаев [65]. Высокая частота MSI при РЭ, а также ее важное клиническое значение послужила поводом для

рекомендаций NCCN (Национальная онкологическая сеть США) относительно обязательного тестирования пациентов на MSI или MMR.

Большая концентрация мутаций в клетке приводит к выработке большого числа антигенов на ее поверхности и, как следствие, – высокой иммуногенности опухоли. Опухоли с MSI обычно хорошо инфильтрированы лимфоцитами, что приводит активации экспрессии PD-L1. Более того, при MSI PD-L1, как правило, экспрессируют не сами опухолевые клетки, а инфильтрирующие ее клетки иммунной системы, что приводит к ингибированию противоопухолевой активности цитотоксических Т-лимфоцитов. Данная ситуация создает предпосылки для возможного применения иммунотерапии у пациентов с MSI [109].

Указанные данные диктуют необходимость изучения феномена MSI в прогнозе и диагностике РЭ. Работ, посвященных исследованию MSI при раке эндометрия и, в частности, скрининг синдрома Линча в России не проводилось.

Следующие альтерации представлены мутациями KRAS (адаптерный белок, передающий сигнал от ростовых факторов или протеинкиназы С на каскады МАПК и β-катенина).

Helen E. и соавт. в своем исследовании показали, что в то время как мутации PTEN, KRAS и MSI часто сосуществуют, мутации β-катенина обычно встречаются изолированно [69]. Как известно, β-катенин – белок, входящий в комплекс Е-кадгерина, формирующего клеточные контакты в эпителиальной ткани, необходимый для клеточной дифференцировки, поддержания нормальной тканевой структуры, играет важную роль в проведении клеточных сигналов. В норме β-катенин нестабилен и быстро деградирует, но в результате мутации структура β-катенина стабилизируется, что приводит к накоплению его в цитоплазме и ядре, а также усилению транскрипции генов, ответственных за переход клетки в S-фазу клеточного цикла.

Ряд авторов предполагают, что β-катенин является компонентом универсального транскрипционного комплекса, начинающего клеточный цикл при любом митогенном стимуле [7]. По мнению S. Lax и соавторов наиболее частой генетической альтерацией для типа II, серозных карцином эндометрия, является мутация онкосупрессора p53 [97]. Функции белка p53 в норме связаны с ответом на повреждения клеточных структур: так, p53 активирует гены (p21 и др.), отвечающие за остановку клеточного деления; гены (BAX, KILLER/DR5, PIG), запускающие апоптоз; гены (TSP1, BAI1), тормозящие ангиогенез; репрессирует гены (BCL-2, BCL-X), сдерживающие апоптоз. «Мутированный» p53 не только превращается в неактивный белок, но и накапливается в клетке, ингибируя действие «спонтанного» p53 и вызывая размножение поврежденных клеток.

Установлено, что мутации одной аллели TP53 развиваются на раннем этапе канцерогенеза, потеря второй аллели происходит позднее, по мере прогрессирования роста опухоли [34,144].

Другой частой альтерацией является инактивация гена p16 и повышенная экспрессия гена HER-2/neu; p16 – онкосупрессор, инактивация которого приводит к неконтролируемому росту клеток. HER-2/neu в свою очередь онкоген, кодирующий трансмембранный рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), участвующий в передаче клеточных сигналов [34,48]. Амплификация или повышенная экспрессия гена HER-2/neu играет важную роль в патогенезе и прогрессировании агрессивных типов рака.

Следующая альтерация представлена снижением экспрессии E-кадгерина (трансмембранного белка клеточной адгезии), характеризующаяся уменьшением сил сцепления между клетками, приводящим к отрыву и распространению опухолевых клеток, т.е. к метастазированию [32,34].

Современное представление и понимание особенностей диагностики РЭ стремится к внедрению патогистолоических и молекулярно-генетических данных.

Одно из недавних исследований, заключающееся в интегративном геномном анализе 373 опухолей эндометрия, проведенно группой ученых Washington University в рамках проекта «The Cancer Genome Atlas (TCGA)», продемонстрировало, что около 1/4 опухолей, классифицированных как низкодифференцированные эндометриоидные, имеет молекулярный фенотип, аналогичный серозным карциномам тела матки, включая мутации TP53 и аномалии числа копий соматических генов [79]. Это стало поводом для выделения 4 новых подгрупп неоплазий эндометрия в зависимости от спектра генетических и молекулярных альтераций.

Y. Hussein и соавт. в многоцентровом исследовании проанализировали морфологические и клиникопатологические параметры 17 опухолей «ультрамутированной» подгруппы TCGA, а также когорту из 8 подобных опухолей, изучаемых в University of Calgary (Канада) [75]. На основании этих, а также некоторых других исследований была предложена обобщенная характеристика новых подгрупп.

- **Ультрамутированные опухоли** характеризуются ультравысокой частотой соматических мутаций, MSI, низким уровнем аберраций числа копий генов, частыми мутациями в генах PTEN, PIK3CA, ARID1A, KRAS, а также высоким уровнем экспрессии CCNB1 (β-катенин) [75,79].

Впервые идентифицированными являются «hotspot mutations» (Pro286Arg, Val411Leu) в структуре экзонуклеарного домена гена POLE [79]. Доказано, что не все опухоли эндометрия, имеющие мутации гена POLE, можно считать «ультрамутированными», в том числе потому, что такие мутации встречаются вне экзонуклеарного домена [75].

Как известно, ген POLE кодирует каталитическую субъединицу ДНК-полимеразы эпсилон и отвечает за синтез лидирующей цепи в процессе репликации ДНК, а также он играет важную роль в распознавании и удалении неправильно сопоставленных нуклеотидов [110,125].

Группой ученых TCGA [2013] были выявлены определенные гены кластера POLE, участвующие в клеточном метаболизме [79], в частности, в

механизмах глюконеогенеза, гликолиза, цикла трикарбоновых кислот II, передачи сигнала через актин цитоскелета и др. [98].

Y. Hussein и соавт. [75], изучающие, в том числе морфологическую структуру опухолей, продемонстрировали, что практически все эндометриальные опухоли, содержащие мутацию гена POLE, имели как минимум компонент эндометриоидной дифференцировки, однако также была выявлена значительная внутриопухолевая гетерогенность. Интересным оказался тот факт, что мутация TP53, характерная для серозных опухолей эндометрия, обнаружена в 6 (35%) из 17 опухолей кластера POLE.

Относительно клинического прогноза «ультрамутированные» опухоли имеют наилучший прогноз по сравнению с другими группами [43]. На этот счет существует несколько гипотез.

Во-первых, это может быть связано с большим числом общих и специфических мутаций, а также резким повышением числа замен, несовместимых с ростом опухолевых клеток и их выживанием [75]. Согласно данным I. Van Gool и соавт. [156], а также B. Howitt и соавт. [74], это возможно, в том числе благодаря увеличению количества антигенных неоэпитопов, которые приводят к усилению противоопухолевого иммунного ответа.

Во-вторых, установлено, что высокие уровни лимфоцитарной инфильтрации, также характерные для опухолей данной группы, ассоциированы с более благоприятным прогнозом [105,111]. При этом инфильтрат содержит популяцию CD8+-лимфоцитов и имеет повышенную экспрессию маркеров цитотоксической лимфоцитарной дифференцировки, а также ИНФ-γ, перфорина 1 и гранзима B [156]. Кроме того, в обзоре E. Rayner и соавт. имеются данные о том, что опухоли, содержащие мутации гена POLE, демонстрируют повышенную экспрессию генов, отвечающих за иммуносупрессию при синтезе молекул, которые могут принимать участие в росте опухоли [70].

Другое объяснение благоприятного прогноза – наличие «предела ошибок»: комбинация дефектной ДНК полимеразы и полная потеря системы репарации ошибочно спаренных нуклеотидов становятся летальными, превышая данный «порог» [70,105].

Отличительные характеристики опухолей, имеющих мутацию гена POLE, могут приводить к сложностям в лечении таких пациенток. Вследствие того, что эти опухоли ассоциируются с благоприятным клиническим прогнозом, риски, связанные с осложнениями адъювантной послеоперационной терапии, могут быть неоправданными [98]. Вместе с тем D. Church и соавт. [49], а также E. Stelloo и соавт. [146] подчеркивают, что мутации гена POLE чаще выявляются в опухолях, подходящих под критерии высокого риска, при которых обычно рекомендована послеоперационная лучевая и химиотерапия. Большое количество мутаций, присутствующих в опухолях данной подгруппы, кроме всего прочего, также приводит к повышению их чувствительности к специфической терапии. Не исключен положительный эффект от применения иммунных ингибиторов, мишенью которых являются молекулы иммуносупрессии (PD1, PDL1) [127]. Более того, данные, представленные V. Twyman-Saint и соавт., о потенцировании действия иммунных ингибиторов с помощью лучевой терапии, свидетельствуют о возможном успехе такой комбинации [153].

В основе другого вида терапии этих опухолей лежит упомянутая выше концепция «предела ошибок». В теории такие агенты, как мутагенные нуклеозиды или ингибиторы репарации ДНК [77], могут быть использованы для повышения уровня мутаций до значений, превышающих данный «порог», что приведет к гибели опухоли [104].

- **«Hypermutated» tumors** характеризуются MSI в связи с метилированием MLH1-промотера. Кроме того, наблюдаются общий высокий уровень мутаций и небольшое количество альтераций числа копий генов [75]. MSI -опухоли имеют как высокий уровень экспрессии PIK3CA, так и низкий уровень экспрессии PTEN [79]. По данным TCGA [2013], ни

одна из опухолей с высокой MSI не имела мутаций в «hotspot» гена POLE [75]. Также S. Byron и соавт. [42] было установлено, что мутации KRAS и FGFR2 встречались значительно чаще среди MSI -опухолей в отличие от мутаций CTNNB1, которые более характерны для микросателлитно-стабильных опухолей.

Следует отметить, что вдобавок к мутациям генов выявлено значительное число повреждений клеточных путей, включающих распад треонина II, глицина и анандамида. Согласно гистологическому исследованию, ни одна из опухолей со смешанной или серозной морфологической структурой не вошла в данную группу [79]. Кроме того, MSI с большей частотой была обнаружена в низкодифференцированных (G3) опухолях по сравнению с высокодифференцированными (G1) [31,89,162].

Исследование эндометриоидных опухолей I. Zighelboim и соавт. продемонстрировало отсутствие корреляции между MSI и исходом заболевания, что также подтвердили I. DiazPadilla и соавт. [55] в метанализе 23 исследований [161].

- «Copy-number low» (CN-low) tumors представлена микросателлитно-стабильными опухолями G1-2 с низким общим уровнем мутаций, но с альтерациями гена PTEN [75,79]. В процессе анализа нарушений сигнальных путей наиболее значительные изменения обнаружены именно в данной группе. Они включают в себя мутации генов CTNNB1, KRAS, SOX17 (регулирует работу β-катенина). При этом в обзоре M. Le Gallo и соавт. [98] мутации гена SOX17 описаны только в этой подгруппе.

Кроме того, почти все (92%) опухоли «CNlow» имеют альтерации PI3K-сигнального пути. Согласно морфологической структуре, превалируют эндометриоидные опухоли различной степени дифференцировки (чаще G1). Подгруппа также характеризуется увеличением экспрессии рецепторов прогестерона, что может свидетельствовать о чувствительности данных опухолей к гормональной терапии [79].

- «Copy-number high» (CN-high, serous-like) tumors характеризуются выраженными аберрациями числа копий соматических генов, низким общим уровнем мутаций, альтерациями в генах TP53, PIK3CA, CTNNB1, снижением уровня фосфо-АКТ-белка, что приводит к деактивации фосфо-АКТ-сигнального пути. [75,79]. По данным литературы в 1/4 случаев выявлена фокальная амплификация ERBB2 (HER-2), часто сочетающаяся с мутациями PIK3CA [79].

По данным K. Berns и соавт. [35] и P. Eichhorn и соавт. [57], такое сочетание аберраций при раке молочных желез обусловливает резистентность к некоторым видам таргетной терапии. В целом данный кластер продемонстрировал наибольшую транскрипционную активность на примере выраженной дизрегуляции клеточного цикла (CCNE1, PIK3CA, MYC, CDKN2A) и мутаций TP53 [79].

Все большое значение исследователи придают мутациям гена CHD4 (кодирует каталитическую субъединицу комплекса ремоделирования хроматина), наличие мутаций в «hotspots» которого, по данным E. Kuhn и соавт. [94], S. Zhao и соавт. [160], а также TCGA (2013), позволяет предположить его ключевую роль в процессе канцерогенеза серозных и серозно-подобных опухолей [79]. Кластер «CN-high» включает большинство серозных и 1/4 эндометриоидных серозно-подобных аденокарцином класса G3 [75,79], что может привести к недооценке прогноза заболевания, основанного только на результатах морфологического исследования новообразований. Из всех подгрупп данные опухоли отличаются наименее благоприятным прогнозом [79].

Обращает на себя внимания и тот факт, что аномалии числа копий соматических генов в эндометриоидных опухолях встречаются редко, тогда как серозные и серозно-подобные опухоли демонстрируют их высокую частоту, которая отрицательно коррелирует с выживаемостью без прогрессирования заболевания [79].

1.4. Варианты лечения рака тела матки

Согласно современным клиническим рекомендациям ESMO и Минздрава России 2018 года тактика лечения пациенток с РЭ определяется с учетом всех негативных факторов риска [51]. При расчете группы риска учитываются возраст больных, стадия заболевания по FIGO, глубина инвазии в миометрий, степень дифференцировки и тип опухоли (эндометриоидная/неэндометриоидная), а также вовлечение в процесс лимфатических узлов [25].

В зависимости от клинической ситуации обосновываются объем хирургического вмешательства и послеоперационная терапия. Именно поэтому правильное определение степени дифференцировки и типа опухоли становится основополагающим моментом при разработке индивидуального плана лечения.

Основным видом лечения рака эндометрия является хирургическое, включающее пангистерэктомию с последующим интраоперационным стадированием. До настоящего времени нет единого мнения о том, когда можно ограничиться простой экстирпацией матки с придатками, а в каких случаях необходимо расширение объема операции до выполнения тазовой и поясничной лимфодиссекции [13,17].

Данные о проведении тазовой и парааортальной лимфаденэктомии при раке эндометрия противоречивы. Эксперты обсуждают, является ли лимфаденэктомия диагностической или терапевтической, и есть ли преимущества в удалении лимфатических узлов у всех пациентов или только для определенной группы [53].

Таблица 1.1

Показания к лимфодиссекции при эндометриоидном РТМ I клинической стадии (консенсус ESGO, ESMO, ESTRO, 2015 г.)

Инвазия миометрия	Степень дифференцировки	Риск лимфогенных метастазов	Тазовая и поясничная лимфодиссекция
≤ 1/2	Высокая и умеренная	Низкий	Нет
≤ 1/2	Низкая	Промежуточный	Возможна для уточнения стадии
> 1/2	Высокая и умеренная	Промежуточный	Возможна для уточнения стадии
> 1/2	Низкая	Высокий	Да

Исследование группы гинекологов-онкологов выявило множественные прогностические факторы, которые влияют на вероятность поражения лимфатических узлов и общую выживаемость. РЭ теперь классифицируется как заболевание с низким, средним и высоким уровнем риска, расчет которого основывается на размере опухоли, стадии, степени инвазии в миометрий, вовлечении шейки матки, поражении лимфатических узлов [52,58,75,79,93,114,118].

В качестве перспективного метода снижения рисков у женщин РТМ, особенно на ранних стадиях, следует отметить эндовидеохирургию (минимальная инвазивная хирургия) [79]. Последние 30 лет эндовидеохирургия прогрессивно внедряется в большинство хирургических дисциплин, в том числе и в гинекологическую практику. Однако в онкологии этот метод хирургического лечения получает свое развитие с некоторым опозданием, несмотря на то, что на сегодня имеются результаты большого числа исследований, в том числе рандомизированных, демонстрируют широкие возможности эндовидеохирургии при РЭ, ранних стадиях рака

шейки матки, не исключается ее применение при раннем раке яичника. [14,23,26,113,119].

Большой круг исследователей отмечает, что эндовидеохирургия позволяет более полно производить стадирующие процедуры при злокачественных опухолевых процессах, что является немаловажным обстоятельством при оценке прогностической значимости, а также выборе тактики ведения больных [3,15].

До настоящего времени вопрос о возможности выполнения тотальной лапароскопической экстирпации матки с придатками с тазовой лимфаденэктомией или без таковой больным РЭ, остается спорным [2,3].

Согласно рекомендациям Международной федерации акушеров и гинекологов (FIGO) выбор дальнейшего адъювантного лечения продиктован различными клинико-морфологическими факторами, а также объемом проведенного хирургического лечения. Однако до сих пор актуальным остается вопрос о выборе наиболее значимых прогностических критериев течения РТМ с учетом сформированных групп риска [17,22].

Таблица 1.2

Группы риска (консенсус ESGO, ESMO, ESTRO, 2015 г.)

Риск	**Описание**
Низкий	Эндометриоидный РТМ, стадия IA, G1—2, нет опухолевых эмболов в лимфатических щелях
Промежуточный	Эндометриоидный РТМ, стадия IB, G1—2, нет опухолевых эмболов в лимфатических щелях
Промежуточный—высокий	Эндометриоидный РТМ
	стадияIA, G3
	стадияIA и IB, G1—2, опухолевые эмболы в лимфатических щелях
Высокий	Эндометриоидный РТМ, стадия IB, G3
	Эндометриоидный РТМ, стадия II
	Эндометриоидный РТМ, стадия III, без остаточной опухоли

	Неэндометриоидный РТМ любых стадий, кроме перечисленных ниже
РТМ поздних стадий	Стадия III, с остаточной опухолью
	Стадия IVA
Метастатический РТМ	Стадия IVB

Piedmonte M.R. и соавт. в своем исследовании по прогнозированию рисков при проведении адъювантной терапии убедительно доказали четкую зависимость рисков от гистологического строения опухоли и распространенности процесса [122].

Изучение закономерностей этиопатогенеза РЭ, анализ причин развития рецидивирования и метастазирования свидетельствуют о том, что результаты терапии могут отличаться даже в пределах одной клинической стадии заболевания с учетом индивидуальных факторов риска [3,4]. Принимая во внимание данное обстоятельство, авторы делают вывод о необходимости введения более агрессивной лечебной тактике у больных РТМ, имея ввиду не только расширение объема хирургического вмешательства на лимфатических путях, но и применение в адъювантном режиме различных вариантов лучевой терапии [12,13].

На протяжении многих лет исследователи подчеркивают отчетливую тенденцию к внедрению в клиническую практику новых методик лучевой диагностики, гистологического исследования послеоперационного материала, молекулярной диагностики, инновационных подходов в хирургии [20,21,53].

Указанные изменения требуют более активного изучения вопроса о диагностической и прогностической значимости уже известных риск-факторов, оценка возможности оптимизации показаний к назначению адъювантного курса лучевой терапии, а также значимости генетических маркеров. [10,14,27,45].

Целый ряд рандомизированных исследований посвящен адъювантной лучевой терапии при РЭ, опубликованы рекомендаций ведущих онкологических сообществ по алгоритмам адъювантной терапии РТМ, в том числе на ранних стадиях [37,116].

Следует отметить, что основная масса рекомендаций по проведению адъювантной терапии РТМ основана не на доступной доказательной базе, тем более с использованием данных по молекулярной диагностике, а на клиническом опыте.

Результаты различных исследований последних лет свидетельствуют об очень противоречивых результатах и после проведения адъювантной лучевой терапии. Авторы указывают на достоверное снижению числа местнораспространенных рецидивов и регионарных метастазов, но отсутствие влияния на показатели продолжительности жизни, однако отмечают статистически значимое повышение частоты осложнений лечения [11].

Опубликованные данные свидетельствуют об отсутствии необходимости проведения лучевой терапии в послеоперационном периоде в группе больных низкого и среднего риска I стадии РЭ. Выявленная закономерность несет важную практическую значимость с учетом высоких финансовых затрат на диагностику и лечение больных РТМ, требуя проведения дорогостоящих диагностических процедур именно в группе женщин высокого риска заболевания [63,68].

Аналогичные результаты были получены и в исследовании ASTEC/EN.5, в котором доказано отсутствие статистически значимых различий 5-летней общей и безрецидивной выживаемости у больных РТМ с адъювантной лучевой терапией и без нее [37]. Данные, полученные в результате исследований, убедительно показали увеличение частоты ранних и поздних лучевых осложнений, а показатель выживаемости при этом, не показал четкой зависимости от группы риска прогрессирования и объема проводимого хирургического вмешательства.

Интересными представляются результаты исследования норвежских ученых, в котором проанализированы результаты лечения больных, период наблюдения за которыми составил 21 год [24,99]. Авторы указали, что факторами риска неблагоприятного прогноза следует считать лучевую терапию больным РТМ на ранней стадии, особенно в возрасте моложе 60 лет [99].

За последние 20 лет произошли существенные изменения и в области лекарственного лечения РТМ. Если 80-90-е годы прошлого столетия были этапом изучения отдельных препаратов и выбора комбинаций в основном при распространенном РТМ, то последние 20 лет стали периодом рандомизированных исследований как при ранних, так и при диссеминированных опухолях [13].

Продолжают оставаться актуальными результаты двух рандомизированных исследований, посвященных применению химиотерапии при РТМ ранних стадий [106,148].

Оба исследования не выявили преимуществ химиотерапии перед дистанционным облучением малого таза при анализе 5-летней общей выживаемости. Однако в японском исследовании в группе высокого риска прогрессирования, химиотерапия статистически значимо улучшала выживаемость по сравнению с дистанционным облучением малого таза. Авторы пришли к заключению, что адъювантная химиотерапия может служить альтернативой адъювантной лучевой терапии у части больных РТМ ранних стадий [148].

Важным этапом в развитии химиотерапии при распространенном РТМ стало исследование GOG 122, которое послужило толчком для целого ряда проведенных исследований в этом направлении [126]. Авторы исследования отметили повышение выживаемости в отсутствие прогрессирования и общей выживаемости в группе, где проводилась химиотерапия.

В течение долгого времени комбинация доксорубицина и цисплатина была стандартом лечения распространенного РТМ [61,62].

К изменению существующих принципов химиотерапии для лечения распрстраненного РТМ привело исследование GOG 209, в котором комбинацию доксорубицина, цисплатина и паклитаксела сравнили с комбинацией паклитаксела и карбоплатина [112].

В это исследование включали больных РТМ III-IV стадий, а также больных с прогрессированием заболевания. Эффективность комбинаций оказалась одинаковой при более благоприятном профиле токсичности комбинации паклитаксела и карбоплатина. В результате последняя комбинация стала на сегодняшний день стандартом лечения РТМ [13].

Следует отметить, что в 2017 году Управление по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США (Food and Drug Administration – FDA) одобрило по ускоренной процедуре лекарственный препарат, предназначенный для лечения пациентов, у которых рак имеет специфический генетический компонент (биомаркер). Тем самым, FDA открыло принципиально новое направление в терапии рака, основанное на общем биомаркере, а не на локализации опухоли. Исключительная ценность этого решения состоит в том, что препарат предназначен для лечения пациентов с неоперабельными или метастатическими солидными опухолями, которые были идентифицированы как имеющие биомаркеры, называемые дефицитом микросателлитной нестабильности (microsatellite instability-high – MSI-H) или дефицитом коррекции неспаренных оснований (mismatch repair deficient – dMMR).

Несмотря на определенные успехи, до сих пор остается актуальным вопрос об адъювантом противорецидивном лечении больных РТМ. Именно первые 3 года после проведения первичного лечения остаются наиболее критичными для возникновения рецидива. Требуется, прежде всего, оценить распространенность рецидива и обсудить вопрос о возможностях адекватного лечения.

По мнению ряда исследователей, хирургическое лечение показано только при солитарных и изолированных рецидивах болезни, так например,

единственный метастаз в легком. В данном случае тактика продиктована улучшением качества жизни и уменьшением выраженности клинических проявлений болезни. В случае отдельного центрально-расположенного рецидива, сохранным больным, как вариант, возможно выполнение экзентерации малого таза [1,30,52,55].

Стоит отметить, что наиболее часто при развитии рецидива РЭ проводится лучевая терапия на зону малого таза. Показатель 5-летней выживаемости в этом случае, по данным разных авторов, имеет широкой диапазон 30-80% у сохранных больных с отсутствием отдаленных метастазов при проведении внутривагинальной брахитерапии [50,53,56].

Безусловно чаще всего рецидивы в малом тазу выявляются в области свода влагалища, поэтому общепринятой тактикой в данной ситуации является проведение лучевой терапии на малый таз. В случае сохранения остаточной опухоли размером менее 3-5 мм, возможно выполнение внутриполостной или, по возможности, внутритканевой брахитерапии. Диагностированная диссеминация является прямым показанием для химиотерапии [58,61,64,88].

В большинстве исследований доказано, что гормональная терапия возможна при локальных формах эндометриоидного РТМ, экспрессирующего рецепторы стероидных гормонов, а также при отдаленных метастазах высокодифференцированного РТМ. В данных случаях последующее прогрессирование опухолевого процесса является показанием для химиотерапии [58,59,106,133].

Согласно современным представлениям тактика ведения больных при больших отдаленных метастазах, умереннодифференцированного и низкодифференцированного РТМ в совокупности с клиническими проявлениями, предусматривает проведение химиотерапии в сочетании с паллиативной лучевой терапией. Пациентам с распространенными формами РЭ, которые прогрессирует после комбинированного лечения, показана

паллиативная помощь или включение в клинические испытания новых цитостатиков или таргетных препаратов [30,31,88,134].

Таким образом, анализ данных литературы подтверждает актуальность проблемы оценки диагностической и прогностической значимости геномных нарушений у больных РТМ. Достижения биохимии и молекулярной биологии уже привели к тому, что в арсенале исследователей и клиницистов имеется огромное количество биологически значимых показателей, которые могут помочь в прогнозировании РЭ и выборе адъювантной терапии при распространенном процессе, однако большинство молекулярных маркеров пока еще прочно не вошли в рутинную практику. Кроме того, несмотря на предпринятую попытку FDA внедрить в практическую деятельность и выделить как отдельное направление терапии лечение, основанное на общем биомаркере MSI-H, научные исследования, обосновывающие применение данного подхода у пациентов с РТМ единичны.

Не достаточно изученными остаются вопросы диагностической и прогностической значимости генов MMR при РЭ, их взаимосвязь с основными клинико-морфологическими факторами прогноза, влияния на общую и безрецидивную выживаемость больных. Все вышеизложенное явилось основанием для проведения настоящего исследования.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом настоящего исследования послужили медицинская документация, клинические данные и исследование операционного материала больных эндометриоидной аденокарциномой эндометрия.

Сбор материала проводился путем выкопировки данных из историй болезни, амбулаторных карт, журнала регистрации оперативных вмешательств, а также компьютерной базы данных ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» и СПбГБУЗ «ГКОД» с использованием специально разработанных анкет. Сбор данных проводили после добровольного письменного согласия пациенток.

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом при ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» 01 апреля 2019 года, протокол № 02-19.

2.1. Общая характеристика больных

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.

Возраст обследованных пациенток варьировал от 39 до 78 лет, средний - составил 59,6±8,75 лет. Возрастная характеристика обследованных женщин представлена на рис. 2.1.

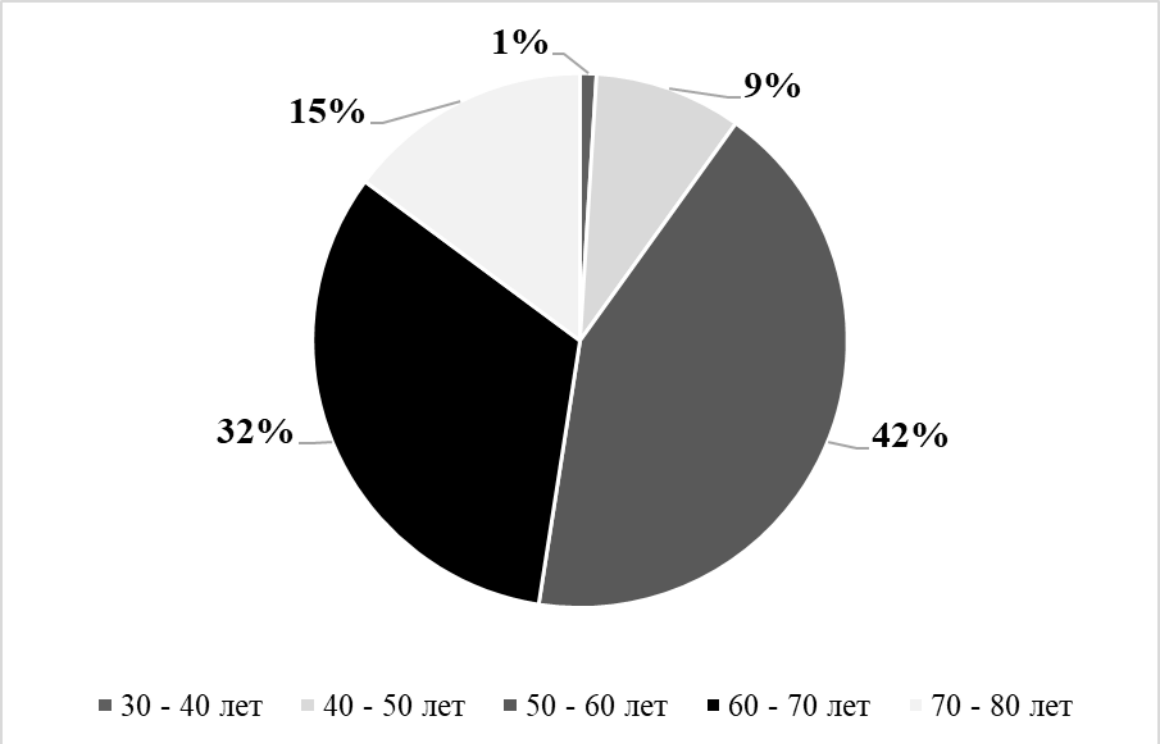


Рис. 2.1. Возрастная характеристика обследованных больных, %

Данные, представленные на рис. 2.1, демонстрируют распределение обследованных больных по возрасту и свидетельствуют о том, что

большинство пациенток – 76 (74,6%) находилось в возрастном диапазоне от 50 до 70 лет: 43 (42,2%) в возрасте 50-60 лет и 33 (32,4%) – 60-70 лет.

Средний возраст пациенток в 1 группе обследования составил 58,0±8,75 лет, во второй – 60,0±9,73 лет (p>0,05), что свидетельствует о том, что больные были сопоставимы по возрасту. Распределение больных по возрастным диапазонам в группах исследования представлено в таблице 2.1.

Таблица 2.1.

Возрастная характеристика больных групп обследования, n и %

Возрастной диапазон	1 группа, n=54		2 группа, n=46	
	Абс.	%	Абс.	%
30-40 лет	2	3,7	1	2,2
41-50 лет	6	11,1	6	13,0
51-60 лет	24	44,4	18	39,1
61-70 лет	18	33,3	12	26,1
более 70 лет	4	7,4	9	19,6
Итого:	54	100,0	46	100,0

Анализ данных таблицы 2.1. показал, что большая часть пациенток из групп обследования соответствовала возрастным диапазонам от 51 до 60 и от 61 до 70 лет как в 1 группе исследования, так и во 2 группе (p>0,05).

Распределение опухолей по степени дифференцировки у обследованных пациенток представлено в таблице 2.2.

Таблица 2.2.

Характеристика обследованных больных по степени дифференцировки опухолей, n и %

Характеристика степени дифференцировки опухоли	Абс.	%
Низкая	26	26,0
Умеренная	46	46,0
Высокая	28	28,0
Итого:	**100**	**100,0**

Анализ данных таблицы 2.2. показал, что почти половина (46,0%) обследованных пациенток имела умеренную степень, почти треть (28,0%) – высокую степень, а 26,0% - низкодифференцированные формы ЭАЭ.

Стадия заболевания определялась в соответствии с шестым изданием TNM классификации злокачественных опухолей [69]. Характеристика обследованных больных по итогам стадирования ЭАЭ представлена на рис. 2.2. и в таблице 2.3.

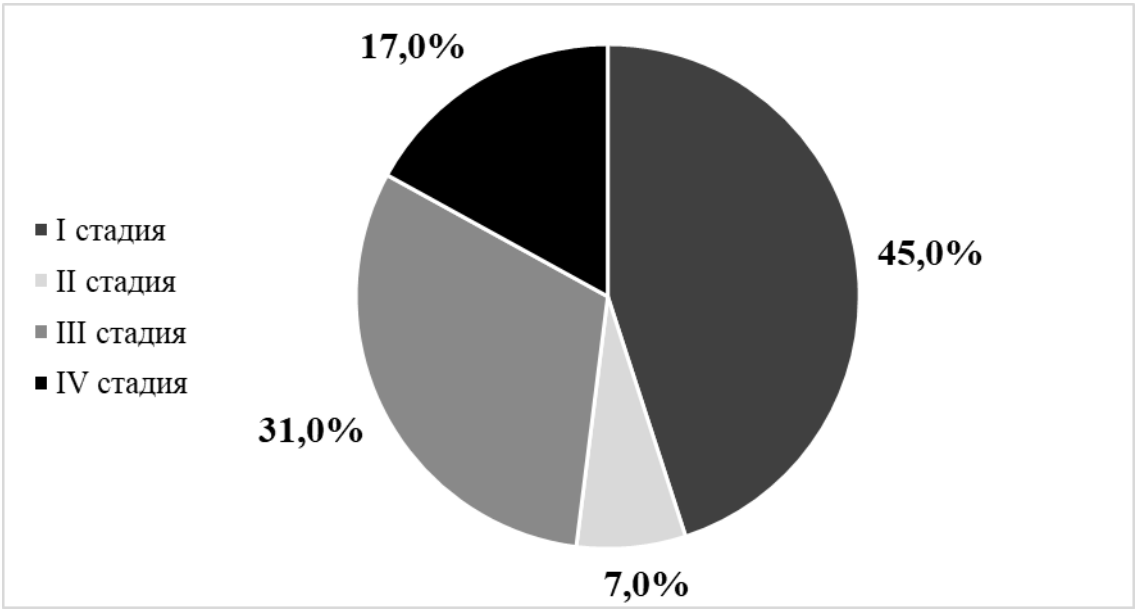


Рис. 2.2. Распределение всех больных по стадиям ЭАЭ согласно классификации FIGO, %

Анализ данных, представленный на рис. 2.2. показывает, что 45,0% всех опухолей относилась к I стадии согласно классификации FIGO, 7,0% – ко II стадии, 31,0% – к III и 17% – к IV стадии заболевания.

Таблица 2.3.

Характеристика клинических стадий эндометриоидной аденокарциномы эндометрия у всех обследованных пациенток, n и %

Стадии согласно классификации		Абс.	%
FIGO	T.N.M.		
I	T1NoMo	10	10,0
	T1aNxMo	3	3,0
	T1aNoMo	20	20,0
	T1вNxMo	6	6,0
	T1вNoMo	5	5,0
	T1cNoMo	1	1,0
II	T2NxMo	1	1,0
	T2вNoMo	6	6,0
III	T2вN1M0	2	2,0
	T2вN2Mo	1	1,0
	T3NxM0	1	1,0
	T3N1M0	2	2,0
	T3aNxM0	5	5,0
	T3aN0M0	2	2,0
	T3aN1M0	2	2,0
	T3вNxM0	2	2,0
	T3вN0M0	2	2,0
	T3cN1M0	12	12,0
IV	T3NxM1	1	1,0
	T3aNxM1	1	1,0
	T3aNxM1	3	3,0
	T3cN1M1	2	2,0
	T4NxM0	1	1,0
	T4NxM1	5	5,0
	T4N1M1	4	4,0
ИТОГО:		100	100,0

Как следует из данных, представленных в таблице 2.3., почти каждая третья женщина в исследовании (30,0%) имела опухоль, ограниченную телом матки без метастазов в регионарных лимфатических узлах (тазовые или поясничные) и отдаленных метастазов (T1aNoMo и T1NoMo). У 12,0% пациенток диагностировано распространение опухоли за пределы матки с поражением нескольких тазовых органов и метастазы в регионарных лимфатических узлах (T3cN1M0). Другие стадии ЭАЭ среди обследованных женщин не превышала 5-6% в общей структуре.

Распределение пациенток групп обследования по стадиям заболевания представлено на рис. 2.3.

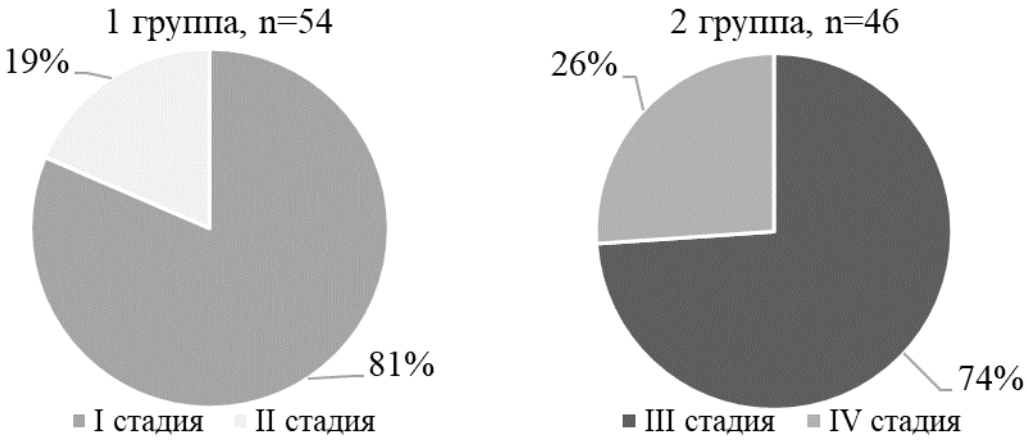


Рис. 2.3. Характеристика клинических стадий, %

Данные, иллюстрированные на рис. 2.3. показывают, что большинство женщин первой группы исследования (81,5%) имели ЭАЭ I стадии и только 18,5% – II стадию. Во второй группе исследования 73,9% пациенток имели III стадию заболевания, а 26,1% – IV клиническую стадию.

В таблице 2.4. представлено распределение больных исследования в зависимости от степени дифференцировки ЭАЭ.

Таблица 2.4.

Характеристика групп исследования по степени дифференцировки ЭАЭ, n и %

Степень дифференцировки	1 группа, n=54		2 группа, n=46		Всего		χ^2	p-level
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%		
низкая	11	20,4	15	32,6	26	26,0	2,63	0,105
умеренная	24	44,4	22	47,8	46	46,0	0,001	0,975
высокая	18	33,3	10	21,7	28	28,0	2,389	0,123
ИТОГО:	54	100	46	100	100	100		

Как показывает анализ данных таблицы 2.4., в обеих группах исследования преобладала умереннодифференцированная ЭАЭ, соответственно по группам – 48,1% и 47,8% (p>0,05). Высокодифференцированные опухоли встречались у 33,3% пациенток 1 группы и 19,6% женщин из 2 группы. Низкую дифференцировку опухоли имели 32,6% пациенток 2 группы и 18,5% больных 1 группы (p>0,05).

Характеристика обследованных пациенток по течению рецидива заболевания представлена в таблице 2.5.

Таблица 2.5.

Характеристика рецидива заболевания у пациенток групп исследования, n и %

Показатель	1 группа, n=54		2 группа, n=46		Всего		p-level
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Факт рецидива/прогрессирования	6	11,1	26	56,5	32	32,0	<0,001
Средний срок наступления рецидива/прогрессирования, M±m / мес.	90,3±3,95		36,6±2,97		65,8±4,01		<0,05*

*Примечание: уровень статистически значимых различий между 1 и 2 группой исследования.

Из данных, представленных в таблице 2.5. видно, что у 11,1% пациенток первой группы и 56,5% пациенток второй группы зарегистрирован факт наступления рецидива или прогрессирования заболевания ($p<0,05$). Средние сроки наступления рецидива в группах исследования составили 65,8±4,01 мес., при этом указанные показатель в 1 группе имел достоверно более высокое значение при сравнении со 2 группой (90,3±3,95 месяцев и 36,6±2,97 мес., соответственно).

Всем больным проведено хирургическое или комбинированное лечение, включающее лучевую и химиотерапию в зависимости от стадии заболевания, морфологической верификации и состояния пациента. Данные о характере проводимой терапии представлены в таблице 2.6.

Таблица 2.6.

Характеристика больных групп исследования в зависимости от характера проводимой терапии, n и %

Проводимая терапия	1 группа		2 группа		Всего	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Хирургическое лечение	44	81,5	0	0,0	44	44,0
Хирургическое лечение и лучевая терапия	10	18,5	0	0,0	10	10,0
Хирургическое лечение, лучевая и химиотерапия	0	0,0	46	100,0	46	46,0

При локальных формах ЭАЭ (I-II стадии) только хирургическое лечение было проведено в 44 (81,5%) случаях, хирургическое лечение с последующей лучевой терапией в 10 (18,5%) случаях. При распространенных формах эндометриоидной аденокарциномы эндометрия (III-IV стадии) всем больным проводилось комбинированное лечение, включающее

циторедуктивную операцию и проведение курсов адъювантной химиотерапии.

Хирургическое лечение в первой группе пациенток при локальных формах ЭАЭ включало операцию - Лапаротомию по Черни. Пангистерэктомию. Ревизию брюшной полости, при необходимости тазовую лимфаденэктомию. У десяти пациенток из первой группы, учитывая распространение процесса на цервикальный канал, глубину инвазии и степень дифференцировки был проведен курс СЛТ: ДЛТ проводилась на аппарате линейном ускорителе электронов (ЛУЭ) SL – 75-5 6 МЭВ в подвижном режиме 2-х осевое, 2-х секторное в режиме среднего фракционирования с разовой дозой 3 Гр до суммарной дозы на тВ до 42 Гр. Внутриполостное облучение влагалища проводилась на аппарате АГАТ-ВУ - облучение влагалища по оси до суммарной дозы на глубине 0,5 см от поверхности слизистой влагалища до 30 Гр.

Во второй группе с распространенными формами ЭАЭ всем пациенткам проводилось комбинированное лечение, включающее циторедуктивную операцию и проведение курсов адъювантной химиотерапии по стандартым схемам.

2.3. Характеристика методов исследования

Клинический метод исследования

Для исключения наличия отдалённых метастазов и вторых опухолей всем пациенткам до лечения проводили комплексное клиническое обследование, включавшее:

1. Беседу с пациенткой, выяснение жалоб, сбор анамнеза заболевания, общий осмотр согласно общепринятым методикам.

2. Клинико-лабораторные исследования: клинический анализ крови и мочи, биохимический анализ крови с определением уровня глюкозы, билирубина, трансаминаз, щелочной и кислой фосфатазы, фибриногена, белков, белковых фракций сыворотки, свёртываемости крови;
3. Электрокардиографию;
4. Рентгенологическое исследование лёгких в двух проекциях;
5. При наличии показаний выполнялись следующие исследования: магнитно-резонансная томография малого таза; магнитно-резонансная томография грудной клетки и головного мозга.

Молекулярно-генетическое исследование

Исследование генов репарации неспаренных нуклеотидов ДНК в опухолевых клетках проводилось в лаборатории ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова».

Опухолевые клетки извлекались из парафиновых блоков с помощью микродиссекции, далее депарафинизированы в ксилоле, промывались в 96% и 70% этиловых спиртах и высушивались; проводилась инкубация с 200 микролитрами лизирущего буфера – 10 mM Tris–HCl (pH 8,0), 0,1 mM EDTA (pH 8,0), 2% SDS, 500 lg/ml proteinase K при 60^{o}C. В течение 10 минут выполнялись два круга органической экстракции. В первом круге – лизаты с небольшим взбалтыванием инкубировались с эквивалентным объемом фенола и 0,3 объема хлороформа/изоамилового спирта (24:1). Водная фаза после центрифугирования переносилась в другую пробирку и подвергалась экстракции с 0,3 объема хлороформа/изоамилового спирта в присутствие 0,3 М ацетата натрия. Супернатанты были сохранены.

Преципитат ДНК был добавлен к аналогичному объему изопропанола и 1 микролитру раствора гликогена (20 мг/мл). Осадок ДНК после инкубации при минус 20^{o}C (не менее 3 часов) был центрифугирован, промыт в 70%

растворе этилового спирта, высушен на воздухе и растворен в 30 мкл воды. С помощью ND-1000 спектрофотометра (Thermo Fisher Scientific) концентрация ДНК измерялась и при помощи разведения достигала 100 нг/мкл. Было получено адекватное количество ДНК. Ниже представлены характеристика праймеров, использованных для диагностирования МС. Основная панель представлена:

- AT26: Forward: GACTACTTTTGACTTCAGCC;
  Reverse: AACCATTCAACATTTTTAACCC.
- BAT25: Forward: TCGCCTCCAAGAATGTAAGT;
  Reverse: TCTGCATTTTAACTATGGCTC.
- BAT40: Forward: ATTAACTTCCTACACCACAAC;
  Reverse: GTAGAGCAAGACCACCTTG.

Праймеры дополнительной панели:

- CAT25: Forward: CCTAGAAACCTTTATCCCTGCTT;
  Reverse: GAGCTTGCAGTGAGCTGAGA.
- NR22: Forward: GAGGCTTGTCAAGGACATAA;
  Reverse: AATTCGGATGCCATCCAGTT.
- NR27: Forward: AACCATGCTTGCAAACCACT;
  Reverse: CGATAATACTAGCAATGACC.

По данным литературы для диагностирования MSI были получены последовательности праймеров [41,60,103,120,147]. Если все три маркера основной панели с маркировкой BAT26, BAT 25 и BAT 40 не показывали изменений, то опухоль считали MSI-негативной. Дополнительные три праймера – CAT 25, NR 22 и NR 27 использовались в случае, если не срабатывал хотя бы один из маркеров основной панели.

Иммуногистохимическое исследование

ИГХИ проводилось по общепринятому протоколу с соблюдением следующих основных этапов:

- из парафиновых блоков срезы наносились на поли-L-лизиновые стекла и для плотного их прикрепления инкубировались в условиях термостата при t=35-37^{o}C;
- выполнялась депарафинизация материала в ксилоле с отмывкой в 96% и 70% растворах этиловых спиртов и дистиллированной воды;
- демаскировка антигенов проводилась при t=96^{o}C с использованием буфера Antigen Retrieval Solution (DAKO), pH 9,0;
- далее следовало ингибирование эндогенной пероксидазы 3% раствором перекиси водорода, и инкубация первых антител к MSH2, MSH6, PMS2, MLH1;
- с помощью системы визуализации Dako EnVision и диаминобензидина в качестве хромогена проводилось выявление связывания антиген-антитело.

Для контр-окрашивания ядер использовался гематоксилин Майера, а инкубация была уменьшена в сравнении со стандартным протоколом и оценивалась исключительно ядерная реакция. Для внутреннего контроля взята нормальная слизистая оболочка, которая прилежала к аденокарциноме. При количестве раковых клеток более 50%, которые показывали негативную реакцию экспрессия считалась утраченной; менее 90% клеток с позитивной реакцией – отмечались как отдельные случаи со сниженной экспрессией.

Характеристика антител к белкам генов репарации неспаренных нуклеотидов ДНК представлена в таблице 2.7.

Таблица 2.7.

Характеристика антител к белкам генов репарации неспаренных нуклеотидов ДНК

Антитело	Характеристика	Разведение	Фирма-производитель
MSH6	Кроличье, клон EPR3945	1:200	Abcam
MSH2	Мышиное, клон 25D12	1:20	DBS
PMS2	Мышиное, клон MOR4G	1:40	Novocastra Leica
MLH1	Мышиное, клон ES05	1:25	Novocastra Leica

2.4. Статистическая обработка данных

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% пациентов 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.

ГЛАВА 3

ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ НЕСПАРЕННЫХ НУКЛЕОТИДОВ ДНК ПРИ ЭНДОМЕТРИОИДНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЕ ЭНДОМЕТРИЯ

В данной главе представлена оценка частоты встречаемости повреждения репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (MMR) при ЭАЭ, проведено сопоставление наличия повреждения в MMR с основными прогностическими факторами и показателями выживаемости.

3.1. Оценка частоты встречаемости нарушения системы репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (dMMR) и характеристика MSI-статуса у обследованных больных с ЭАЭ

В настоящем разделе главы представлена оценка частоты встречаемости dMMR, характеристика MSI-статуса у пациенток с ЭАЭ, а также проведено сопоставление исследования MSI и ИГХ экспрессии MMR генов у пациентов групп исследования.

Характеристика MSI-статуса у пациенток с РЭ с учетом проведенного ИГХ представлена в таблице 3.1.

Таблица 3.1.

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

Анализ данных таблицы 3.1. показал, что 31,0% всех обследованных пациенток имели dMMR, а каждая третья женщина с ЭАЭ при обследовании имела синхронное выпадение экспрессии генов репарации (28,0%). Следует отметить, что в 1 группе исследования пациенток без dMMR было почти в 1,2 раза больше, чем во 2 группе (соответственно по группам – 74,1% и 63,0%), $p > 0,05$.

В 1 группе у почти 26% обследованных отмечено выпадение генов репарации. Чаще всего отмечено синхронное выпадение PMS2/MLH1, частота встречаемости этого сочетания составила 18,5%, то есть практически каждая пятая пациентка данной группы. Частота выпадения экспрессии MSH6 составила 1,9%. Синхронное выпадение отмечено у каждой четвертой женщины из 1 группы (24,1%) и, как было описано выше, представлено было, в основном синхронным выпадением PMS2/MLH1. Гораздо реже отмечено выпадение экспрессии генов репарации в сочетании MSH2/MSH6 (3,7%) и MSH6/PMS2 (1,9%).

Во 2 группе исследования выпадение экспрессии генов репарации встречалось почти в 1,4 раза чаще и составило 37,0%. Почти у каждой третьей женщины этой группы (28,3%) отмечено синхронное выпадение PMS2/MLH1, что в 1,4 раза чаще, чем частота встречаемости аналогичного сочетания в 1 группе исследования. Частота выпадения экспрессии MSH2 и сочетание MSH2/MSH6 встречалось с частотой 4,4%.

В настоящем исследовании у 35 женщин с dMMR по данным ИГХ проведено МГИ с определения MSI-статуса. Характеристика MSI-статуса у пациенток с ЭАЭ с учетом проведенного МГИ продемонстрирована на рис. 3.1. Структура MSI-статуса у пациенток групп исследования не имела существенных различий. Оценивая пациентов с ЭАЭ в целом следует отметить, что 40,0% имели MSI- high, несколько реже, с частотой 34,3%, встречалось MSI-low и у 25,7% выявлен MSS.

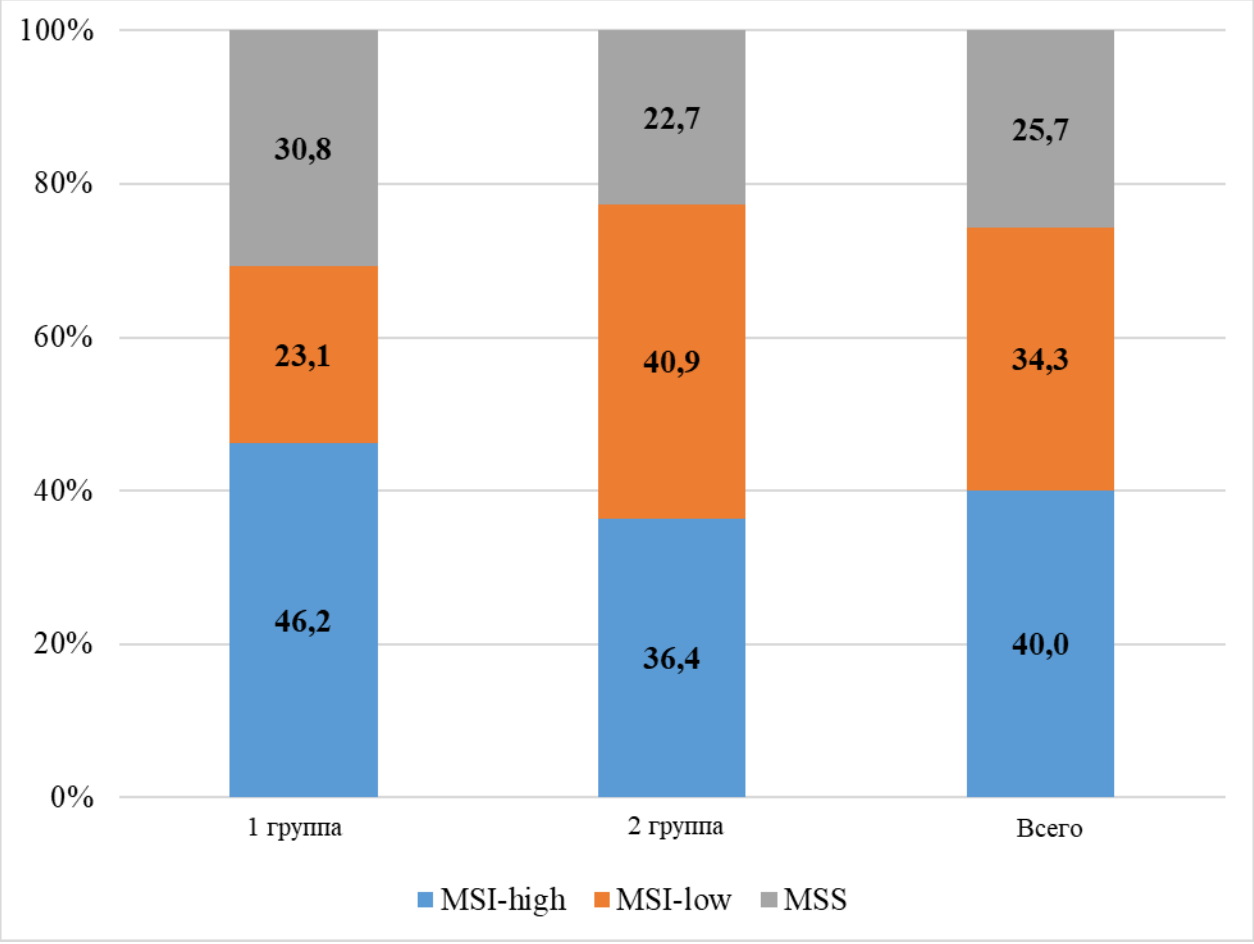
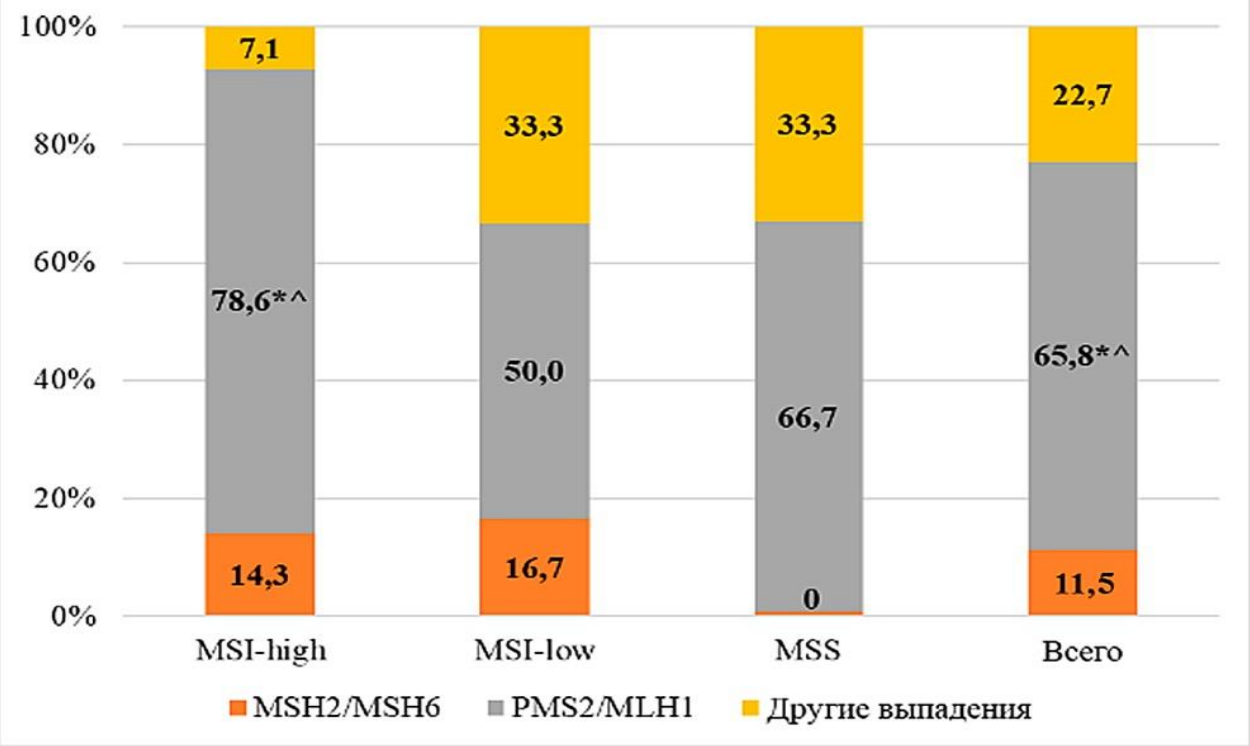


Рис. 3.1. Характеристика MSI-статуса у пациенток с ЭАЭ с учетом проведенного МГИ, n и %

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

Сравнительный анализ между группами исследования показал, что MSI-high в 1,3 раза чаще встречался у пациентов 1 группы, MSI-low – в 1,8 раза чаще у женщин 2 группы и MSS – в 1,4 раза чаще у больных 1 группы, однако уровня статистически значимых различий указанные изменения не достигли (все p>0,05).

Сопоставление исследований MSI (метод ПЦР) и MMR генов (ИГХ метод) у пациентов групп исследования представлено на рис. 3.2. и в таблице 3.2.



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

^ - достоверность различий между PMS2/MLH1 и Другие выпадения (p<0,05)

Рис. 3.2. Сопоставление исследований MSI и MMR генов у пациенток с ЭАЭ, %

Анализ данных, иллюстрированных рис. 3.2. свидетельствует, что среди пациенток с выпадением генов репарации с достоверно более высокой частотой встречалось одновременное выпадение PMS2/MLH1 (65,8%), комбинация MSH2/MSH6 встречалась гораздо реже с частотой 11,5% и достигало уровня статистически значимых различий при сравнении с синхронным выпадением PMS2/MLH1 ($p<0,01$), другие выпадения отмечены в 22,9% случаев всех выпадений и также достигало уровня статистически значимых различий при сравнении с одновременным выпадением PMS2/MLH1 ($p<0,01$).

Дальнейший анализ MSI-статуса среди всех пациенток с выпадением генов репарации и сопоставление данных с результатами ИГХ исследования показали, что при MSI высокой степени у 11 (78,6%) диагностировано синхронное выпадение PMS2/MLH1 и достигало уровня статистически значимых различий при сравнении с MSH2/MSH6 и другими выпадениями (все $p<0,05$). У 2 (14,3%) женщин отмечено выпадение MSH2/MSH6 и у 1 (7,1%) пациентки – другие выпадения.

При диагностированной MSI низкой степени одновременное выпадение PMS2/MLH1 выявлено у половины обследованных женщин – 6 (50,0%), комбинация MSH2/MSH6 – у 2 (16,7%) и другие выпадения зафиксированы в 4 (33,3%) случаях, однако уровня статистически значимых различий при сравнении указанных данных не получено.

Интересными представляются результаты оценки структуры MSS, то есть отсутствие микросателлитной нестабильности по данным МГИ. В случае выявленной MSS у 9 больных отмечены изменения по результатам ИГХ, а именно в 6 случаях (66,7%) диагностировано синхронное выпадение PMS2/MLH1 и в 3 случаях (33,3%) – выпадение MSH2/MSH6, что может свидетельствовать у большей чувствительности метода ИГХ по сравнению с МГИ.

Внутригрупповой анализ по сопоставлению результатов исследования MSI (метод ПЦР) и MMR генов (ИГХ метод) у пациенток 1 и 2 группы исследования представлен в таблице 3.2.

Таблица 3.2.

Сопоставление исследований MSI (метод ПЦР) и MMR генов (ИГХ метод) у пациенток групп исследования, n и %

Показатель	MSI-high		MSI-low		MSS	
	n	%	n	%	n	%
1 группа, n=13						
MSH2/MSH6	0	0	2	66,7	0	0
PMS2/MLH1	5	83,3	1	33,3	3	75,0
Другие выпадения	1	16,7	0	0	1	25,0
Всего	6	46,2	3	23,1	4	30,8
2 группа, n=22						
MSH2/MSH6	2	25,0	0	0	0	0
PMS2/MLH1	6	75,0	5	83,1	3	100,0
Другие выпадения	0	0	1	16,7	0	0
Всего	8	47,1	6	35,3	3	17,7

Анализ данных, представленный в таблице 3.2. показал, что из 13 пациенток 1 группы исследования почти у половины обследованных установлена MSI высокой степени (46,2%), в два раза реже встречалась MSI низкой степени (23,1%). Обращает на себя внимание тот факт, что в каждом третьем случае (30,8%) диагностированного выпадения генов репарации по данным ИГХ по данным МГИ определено статус MSS. Наиболее часто у пациенток с MSI- high отмечено выпадение PMS2/MLH1 (83,3%) и только у 1 пациентки (16,7%) – другие варианты выпадения генов репарации неспаренных нуклеотидов ДНК. Несколько иная структура выпадений отмечена у больных с MSI-low, в группе которых чаще отмечено выпадение MSH2/MSH6 (66,7%) и только в 33,3% – PMS2/MLH1, однако уровня статистически значимых различий по указанным показателям не достигнуто.

Во 2 группе исследования также практически в половине случаев установлена MSI высокой степени (47,1%), у 6 (35,3%) пациенток – MSI низкой степени и у 3 (17,7%) – MSS. При сопоставлении результатов МГИ и ИГХ выявлено, что у пациенток с MSI-high чаще всего установлено выпадение PMS2/MLH1 (75,0%) и в 3 раза реже встречалось одновременное выпадение MSH2/MSH6 (25,0%). У больных с MSI-low в преимущественном большинстве случаев отмечено выпадение PMS2/MLH1 (83,1%) и в 1 случае (16,7%) было представлено другое выпадение генов репарации.

Следует отметить, что во 2 группе исследования было 5 женщин без микросателлитной нестабильности по результатам ИГХ и обследование с помощью МГИ установило статус MSS.

Однако особую настороженность вызывают результаты, полученные по сопоставлении результатов ИГХ и МГИ у женщин обеих групп исследования и свидетельствующие о том, что у 7 (20,0%) женщин с диагностированным выпадением MMR генов по результатам МГИ определен статус MSS. Указанные данные свидетельствуют о том, что в каждом пятом случае МГИ не позволяет диагностировать микросателлитную нестабильность у пациенток с ЭАЭ.

3.2. Сопоставление наличия повреждения в MMR с основными прогностическими факторами и показателями выживаемости у пациенток с ЭАЭ

Для оценки значимости вклада синхронного выпадения генов репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (MMR) у больных ЭАЭ в группах исследования были выделены подгруппы. В подгруппах выделены категории больных, у которых по результатам ИГХ отмечено синхронное выпадение в MMR – MSH2/MSH6 и PMS2/MLH1.

Результаты анализа по сопоставлению наличия повреждения в MMR с основными диагностическими факторами (возраст больных, степень дифференцировки опухоли) представлены в таблице 3.3.-3.5, рис.3.3.-3.4.

Как показывает анализ данных таблицы 3.3. средний возраст пациенток с dMMR составил 58,4±1,75 лет, а больных без dMMR 59,2±1,09 лет и не имел достоверно значимых различий при сравнении ($p>0,05$).

В 1 группе исследования показатель среднего возраста у пациенток с dMMR составил 59,3±2,64, без dMMR – 57,6±1,33 лет. Во 2 группе значение аналогичного показателя у женщин с dMMR соответствовало 57,6±2,39 годам, а у пациенток без dMMR средний возраст был несколько выше и составил 61,4±1,77 лет, однако уровня статистически значимых различий достигнуто не было ($p>0,05$).

Данные, представленные в таблице 3.4. по сопоставлению наличия MSI с возрастом свидетельствуют, что у больных с MSI средний возраст составил 56,0±1,90 лет, а у пациенток с MSS - 63,3±2,88.

В 1 группе исследования у женщин с MSI средний возраст составил 57,56±3,7 лет, а у MSS-женщин – 61,5±4,17, однако при сравнении достоверно значимых различий не получено ($p>0,05$). Во 2 группе исследования при сравнении значений среднего возраста достигнут уровень статистически значимых различий по указанному показателю. Так, средний возраст у пациенток с MSI составил 55,2±2,23 лет, в то время как у женщин MSS-пациенток – 65,0±4,38 лет ($p<0,05$).

Таблица 3.3.

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

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
Средний возраст, M±m, годы	59,3±2,64	57,6±1,33	57,6±2,39	61,4±1,77	58,4±1,75	59,2±1,09

Примечание: p>0,05

Таблица 3.4.

Сопоставление наличия MSI с возрастом у пациенток групп исследования, n и %

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
Средний возраст, M±m, годы	57,6±3,67	61,5±4,17	**55,2±2,23**	**65,0±4,38***	56,0±1,90	63,3±2,88

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

Возрастная характеристика пациенток групп исследования в зависимости от вида синхронного выпадения MMR представлена в таблице 3.5.

Таблица 3.5.

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)

Анализ данных, приведенных в таблице 3.5. показал, что средний возраст пациенток с выпадением экспрессии генов MSH2/MSH6 составил 42,3±4,15 года, что существенно меньше при сравнении со средним возрастом больных с выпадением экспрессии PMS2/MLH1, который составил 60,0±1,62 лет (p<0,05). Средний возраст пациенток 1 группы исследования с выпадением MSH2/MSH6 составил 40,5±8,50 лет, что статистически сопоставимо аналогичной подгруппой во 2 группе исследования, где средний возраст пациенток был 44,0±5,00 (p>0,05).

Средний возраст пациенток 1 группы исследования с выпадением PMS2/MLH1 составил 61,9±1,79 лет, что также было статистически сопоставимо с данными, полученными во 2 группе исследования – 58,5±2,50 года (p>0,05).

Следует отметить, что при внутригрупповом сравнении, как в 1 группе, так и во 2 группе исследования у пациенток с выпадением MSH2/MSH6 средний возраст был существенно меньше, чем у пациентов с выпадением экспрессии PMS2/MLH1 (все p<0,05). 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.

Представляло интерес изучение возрастной структуры пациенток с наличием повреждения в MMR в зависимости от одновременного выпадения. На рис. 3.3. продемонстрирована возрастная структура всех пациенток групп исследования в зависимости от синхронного выпадения экспрессии генов MSH2/MSH6 и PMS2/MLH1.

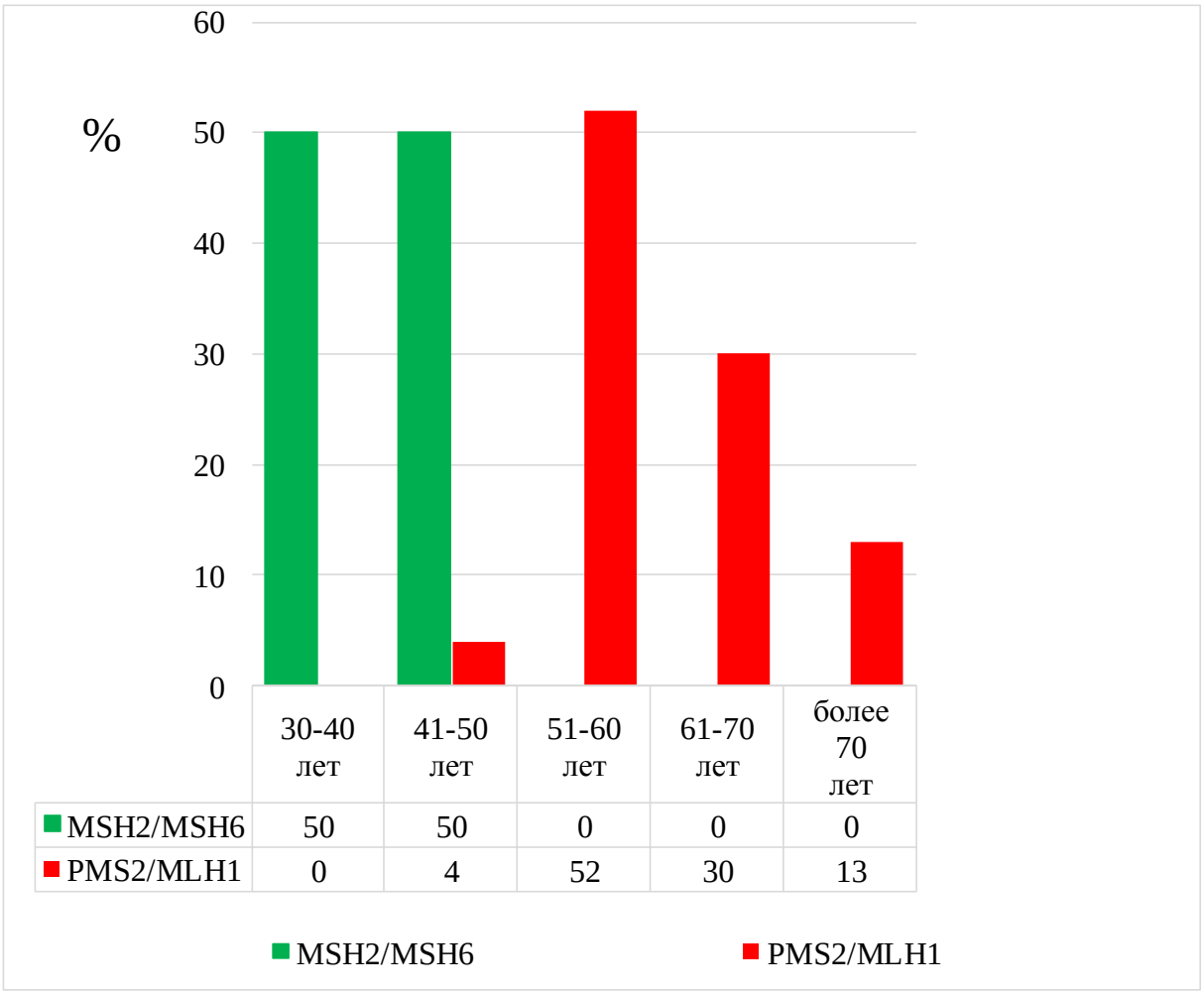
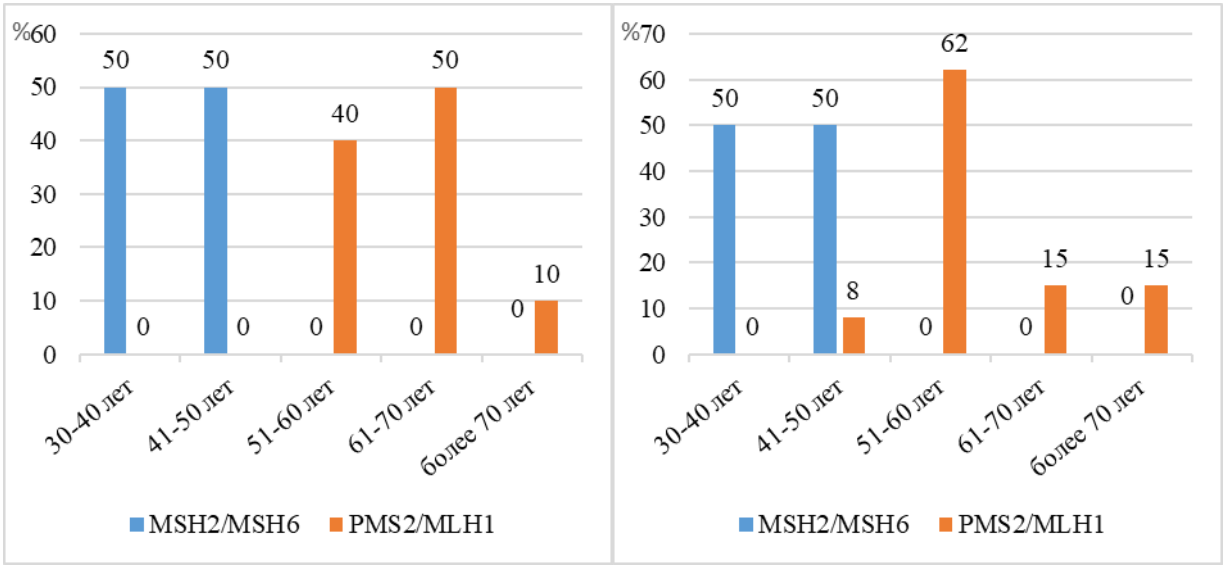


Рис.3.3. Возрастная структура пациентов групп исследования в зависимости от синхронного выпадения экспрессии генов MSH2/MSH6 и PMS2/MLH1, %

Анализ данных, иллюстрированный рис.3.3. показал, что в подгруппе пациенток с выпадением генов репарации MSH2/MSH6 преобладали женщины в возрасте до 50 лет, тогда как при выпадении PMS2/MLH1 женщины относились к более старшей возрастной категории. Преимущественное большинство больных (82%) с выпадением PMS2/MLH1 находилось в возрастном диапазоне 50-70 лет.

Сравнительный внутригруппой анализ возрастной структуры всех пациенток групп исследования в зависимости от одновременного выпадения экспрессии генов MSH2/MSH6 и PMS2/MLH1 иллюстрирован рис. 3.4.



1 группа **2 группа**

Рис.3.4. Внутригрупповая возрастная структура больных в зависимости от синхронного выпадения экспрессии генов MSH2/MSH6 и PMS2/MLH1, %

Как показывает анализ данных, иллюстрированный рис.3.4., как в 1 группе, так 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.

Характеристика наличия dMMR в зависимости от степени дифференцировки опухоли у пациенток групп исследования представлена в таблице 3.6.

Таблица 3.6.

Сопоставление наличия dMMR со степенью дифференцировки опухоли у пациенток групп исследования, n и %

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
Низкая	5 (35,7)	5 (12,5)	4 (23,5)	11 (37,9)	9 (29,0)	16 (23,2)
Умеренная	6 (42,9)	20 (50,0)	8 (47,1)	14 (48,3)	14 (45,2)	34 (49,3)
Высокая	3 (21,4)	15 (37,5)	5 (29,4)	4 (13,8)	8 (25,8)	19 (27,5)

Примечание: p>0,1

Анализ данных таблицы 3.6. показал, что у обследованных больных с dMMR почти половина женщин имели умеренную дифференцировку опухоли (45,2%), почти треть – с низкой дифференцировкой (29,0%) и четверть – с высокой (25,8%). Почти такое же распределение степени дифференцировки имели и женщины без dMMR – 49,3%, 23,2% и 27,5% соответственно.

В 1 группе обследования чаще всего встречалась умеренная степень дифференцировки опухолевого процесса как среди пациенток с dMMR, так и среди женщин без dMMR – 42,9% и 50,0%, соответственно. Следует отметить, низкая дифференцировка опухоли чаще встречалась у пациенток с dMMR, чем у женщин без dMMR, частота встречаемости составила 35,7% у женщин с dMMR и 12,5% у пациенток без dMMR. Высокая степень дифференцировки ЭАЭ в 1,8 раза чаще встречалась у пациенток без dMMR, чем у женщин с dMMR.

Во 2 группе исследования также у женщин преобладали опухоли с умеренной степенью дифференцировки, частота которых в подгруппе с dMMR составила 47,1%, а без dMMR – 48,3%. Низкая дифференцировка ЭАЭ в 1,6 раза чаще встречалась в подгруппе женщин без dMMR, чем с dMMR (37,9% и 23,5%, соответственно), тогда как высокая дифференцировка опухоли отмечалась в 2 раза чаще в подгруппе пациенток с dMMR.

Не смотря на имеющиеся различия в дифференцировке опухоли, достоверных различий не получено ни в первой группе, ни во второй, p>0,1.

Сопоставление наличия MSI со степенью дифференцировки опухоли у пациенток групп исследования представлена в таблице 3.7.

Таблица 3.7.

Сопоставление наличия MSI со степенью дифференцировки опухоли у пациенток групп исследования, n и %

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
Низкая	5 (38,5)	0	4 (22,2)	1 (25,0)	9 (33,3)	1 (12,5)
Умеренная	3 (23,1)	3 (75,0)	10 (55,6)	1 (25,0)	13 (48,2)	4 (50,0)
Высокая	1 (7,7)	1 (25,0)	4 (22,2)	2 (50,0)	5 (18,5)	3 (37,5)

Примечание: p>0,5

Анализ данных таблицы 3.7. показал, что почти половина женщин как с положительным MSI, так и пациенты с MSS имели умеренную степень дифференцировки опухолевого процесса. В подгруппе женщин с MSI-статусом 33,33% женщин имели низкую дифференцировку опухоли, а 18,5% – высокую. Распределение уровня дифференцировки опухолевого процесса в группе MSS-стабильных женщин было несколько иное, а именно только у 12,5% женщин отмечена низкая степень дифференцировки и почти у 40% высокая дифференцировка ЭАЭ.

В 1 группе исследования большая часть MSS-стабильных женщин имели умеренную дифференцировку опухоли и у 25% ЭАЭ была высокой степени дифференцировки. В подгруппе пациенток с MSI у 38,5% женщин отмечена низкая степень дифференцировки, тогда как среди MSS-стабильных больных низкой дифференцировки не было зафиксировано, однако уровня статистически значимых различий по данному показателю достигнуто не было (p>0,05). Следует отметить, что различия выявлены и по показателю умеренной степени дифференцировки опухоли, которая среди пациенток с MSS встречалась в 3,2 раза чаще, чем среди женщин с MSI.

Во 2 группе исследования половина женщин со стабильным MSS-статусом имели высокую степень дифференцировки ЭАЭ, 25,0% - низкую и 25,0% – высокую степень. Подгруппы исследования по показателю низкой дифференцировки не отличились между собой. В подгруппе с MSI в два раза больше по сравнению с подгруппой MSS-стабильных женщин отмечено умеренно дифференцированных опухолей. Дифференцировки опухоли высокой степени, напротив почти в два раза чаще регистрировалась среди пациенток с MSS.

Характеристика вида синхронного выпадения MMR в зависимости от степени дифференцировки опухоли у пациенток групп исследования представлена в таблице 3.8.

Таблица 3.8.

Сопоставление вида синхронного dMMR со степенью дифференцировки опухоли у пациенток групп исследования, n и %

Показатель	1 группа				2 группа				Всего			
	MSH2/MSH6		PMS2/MLH1		MSH2/MSH6		PMS2/MLH1		MSH2/MSH6		PMS2/MLH1	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Низкая	1	50,0	4	40,0	1	50,0	2	15,4	2	50,0	6	26,1
Умеренная	1	50,0	4	40,0	1	50,0	7	53,9	2	50,0	11	47,8

Высокая	0	0	2	20,0	0	0	4	30,8	0	0	6	26,1
ИТОГО	2	100,0	10	100,0	2	100,0	13	100,0	4	100,0	23	100,0

Анализ данных, представленных в таблице 3.8. показал, что у пациенток с выпадением MSH2/MSH6 с равной частотой встречались низкая и умеренная дифференцировка опухоли, 50,0% и 50,0% соответственно. Фактов выявления высокодифференцированных опухолей при данной комбинации MMR не отмечено. У женщин с выпадением экспрессии PMS2/MLH1 чаще всего отмечены умеренно дифференцированные опухоли и с равной частотой (26,1%) выявлена низкая и высокая дифференцировка опухоли.

Сравнительный анализ между группами исследования показал, что при выпадении MSH2/MSH6 как в 1 группе, так и во 2 группе исследования в 50,0% случаев отмечена низкая дифференцировка и в 50,0% умеренная дифференцировка.

Структура дифференцировки опухолей у женщин 1 группы исследования с наличием выпадения PMS2/MLH1 в 40,0% случаев была представлена опухолями низкой и умеренной дифференцировки и 20,0% – высокой. Во 2 группе исследования 2 женщины (15,4%) имели низко дифференцированные опухоли, что в 2,7 раза меньше, чем аналогичный показатель у пациентов 1 группы исследования, однако уровня статистически значимых различий не получено. У 7 пациенток (53,9%) 2 группы отмечены умеренно дифференцированные опухоли и у 4 женщин (30,8%) – ЭАЭ высокой дифференцировки.

Анализируя данные по сопоставлению наличия повреждения в MMR со степенью дифференцировки опухоли у пациенток групп исследования при выпадении генов репарации PMS2/MLH1 отмечена тенденция к увеличению доли высоко дифференцированных опухолей.

Для оценки прогностической значимости были взяты показатели общей 5-летней выживаемости и время до наступления рецидива или прогрессирования ЭАЭ.

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

Результаты анализа по сопоставлению показателей 5-летней общей выживаемости и частоты наступления рецидива или прогрессирования у пациенток групп исследования в зависимости от наличия dMMR представлены в таблице 3.9.

Анализ данных, представленных в таблице 3.9. показал, что 71,0% 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.

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, однако различия не достигали уровня статистической значимости (79,8% и 21,4%, соответственно, $p>0,05$.

Во 2 группе исследования 53,0% женщин с dMMR достигли уровня 5-летней выживаемости и у 41,2% отмечено прогрессирование. В подгруппе без dMMR 31,0% пациенток достигли уровня 5-летней выживаемости и у 58,6% отмечено прогрессирование, $p<0,03$.

Результаты анализа по сопоставлению наличия повреждения в MMR с показателями общей 5-летней выживаемости и факта наступления рецидива или прогрессирования представлены в таблице 3.10.

Анализ данных таблицы 3.10. показал, что показатель 5-летней выживаемости у пациенток с выпадением MSH2/MSH6 составил 75,0%, тогда как у больных с выпадением PMS2/MLH1 5-летняя выживаемость была в 1,2 раза меньше и составила 60,9%.

Внутригрупповой анализ по указанному показателю свидетельствует, что в 1 группе исследования уровня 5-летней выживаемости достигли все пациентки с выпадением MSH2/MSH6 и большая часть (70,0%) пациенток с выпадением PMS2/MLH1. Во 2 группе исследования отмечена несколько иная картина – только половина женщин преодолели порог 5-летней выживаемости (50,0% и 54,0%, соответственно), что в 2 раза меньше в подгруппе с выпадением MSH2/MSH6 и в 1,3 раза меньше в подгруппе с выпадением PMS2/MLH1, однако уровня статистически значимых различий по указанному показателю не достигнуто (все $p>0,05$).

Оценка наличия рецидива или прогрессирования свидетельствует, что у каждой четвертой женщины с диагностированным выпадением MSH2/MSH6 отмечено прогрессирование основного заболевания. Обращает на себя внимание тот факт, что данный показатель был сформирован за счет пациенток 2 группы исследования, случаев рецидивов в 1 группе исследования не выявлено.

Почти 44% женщин с выпадением PMS2/MLH1 имели рецидив или прогрессирование ЭАЭ. Следует отметить, что большая часть женщин была представлена пациентами 2 группы исследования. Так, в 1 группе только у 20% женщин с выпадением PMS2/MLH1 отмечен рецидив, в то время как во 2 группе у 8 (65%) больных диагностировано прогрессирование ЭАЭ. Однако уровня статистически значимых различий по указанному показателю достигнуто не было (все $p>0,05$).

Таблица 3.9.

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 ($p<0,03$)

Таблица 3.10.

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

Показатель	1 группа				2 группа				Всего			
	MSH2/MSH6, n=2		PMS2/MLH1, n=10		MSH2/MSH6, n=2		PMS2/MLH1, n=13		MSH2/MSH6, n=4		PMS2/MLH1, n=23	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
5-летняя выживаемость	2	100,0	7	70,0	1	50,0	7	53,9	3	75,0	14	60,9
Наличие рецидива или прогрессирования	0	0	2	20,0	1	50,0	8	61,5	1	25,0	10	43,5

Результаты анализа по сопоставлению наличия dMMR с показателями средней длительности безрецидивного периода или средней длительности до прогрессирования представлены в таблице 3.11.

Анализ представленных в таблице 3.11. данных показал, что у пациенток с dMMR средняя длительность безрецидивного периода или средняя длительность до прогрессирования составила 58,0±6,48 месяцев. В подгруппе женщин без dMMR указанный показатель был несколько выше и составил 69,5±5,01 месяцев.

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.

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 $p<0,05$.

Таблица 3.11.

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 3.12.

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)

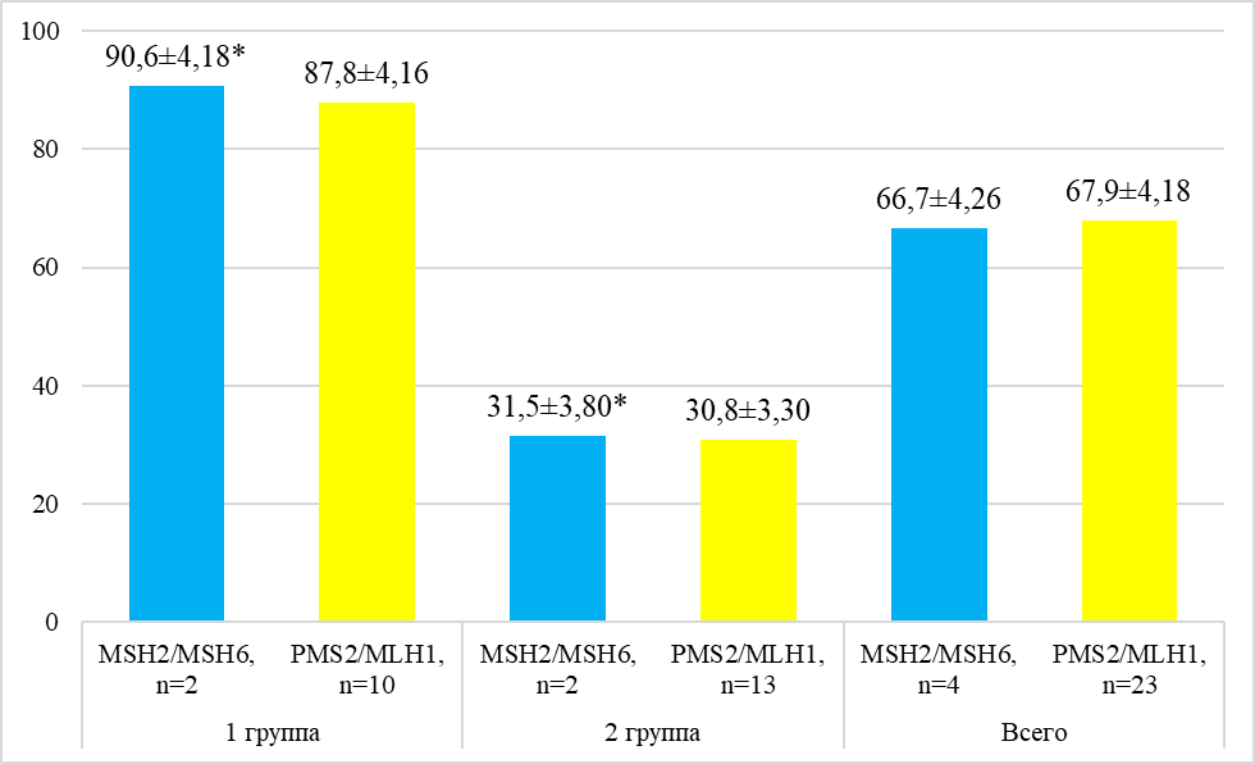
Результаты анализа по сопоставлению MSI-статуса с показателями средней длительности безрецидивного периода или средней длительности до прогрессирования представлены в таблице 3.12.

Анализ представленных в таблице 3.12. данных показал, 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 ($p>0,05$).

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.

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, $p<0,05$.

Результаты анализа по сопоставлению вида dMMR с показателями средней длительности безрецидивного периода или средней длительности до прогрессирования иллюстрировано рис. 3.5.



Примечание: * - статистически значимые различия между 1 и 2 группой исследования

Рис. 3.5. Средняя длительность жизни до наступления рецидива / прогрессирования (месяцы), M±m

Данные, иллюстрированные рис. 3.5. свидетельствуют, что у всех обследованных пациенток с выпадением MSH2/MSH6 средняя длительность жизни до наступления рецидива или прогрессирования заболевания составила 66,7±4,26 месяцев, а у больных с выпадением PMS2/MLH1 67,9±4,18 месяцев и при сравнении не достигала уровня статистически значимых различий.

У женщин первой группы исследования с выпадением MSH2/MSH6 средняя длительность жизни до наступления рецидива составила 90,6±4,18 месяцев, а в подгруппе с выпадением PMS2/MLH1 несколько ниже – 87,8±4,16 месяцев, однако достоверность статистически значимых различий не получена.

У женщин второй группы исследования в подгруппе с выпадением MSH2/MSH6 средняя продолжительность жизни до наступления прогрессирования составила 31,5±3,80 месяцев, а у женщин с выпадением

PMS2/MLH1 – 30,8±3,30 месяцев и также не было достигнуто уровня статистически значимых различий.

Сравнительный внутригруппой анализ показал наличие статистически значимых различий при сравнении средней продолжительности жизни до рецидива между пациентками с выпадением MSH2/MSH6 в 1 и 2 группе исследования, а также по изучаемому показателю при сравнении подгрупп с выпадением PMS2/MLH1 также в 1 и 2 группах исследования, что представляется вполне очевидным, учитывая принцип деления групп с учетом распространенности опухолевого процесса (все $p<0,05$).

Оценка показателя общей выживаемости у пациентов групп исследования в зависимости от наличия dMMR представлена на рис. 3.6.

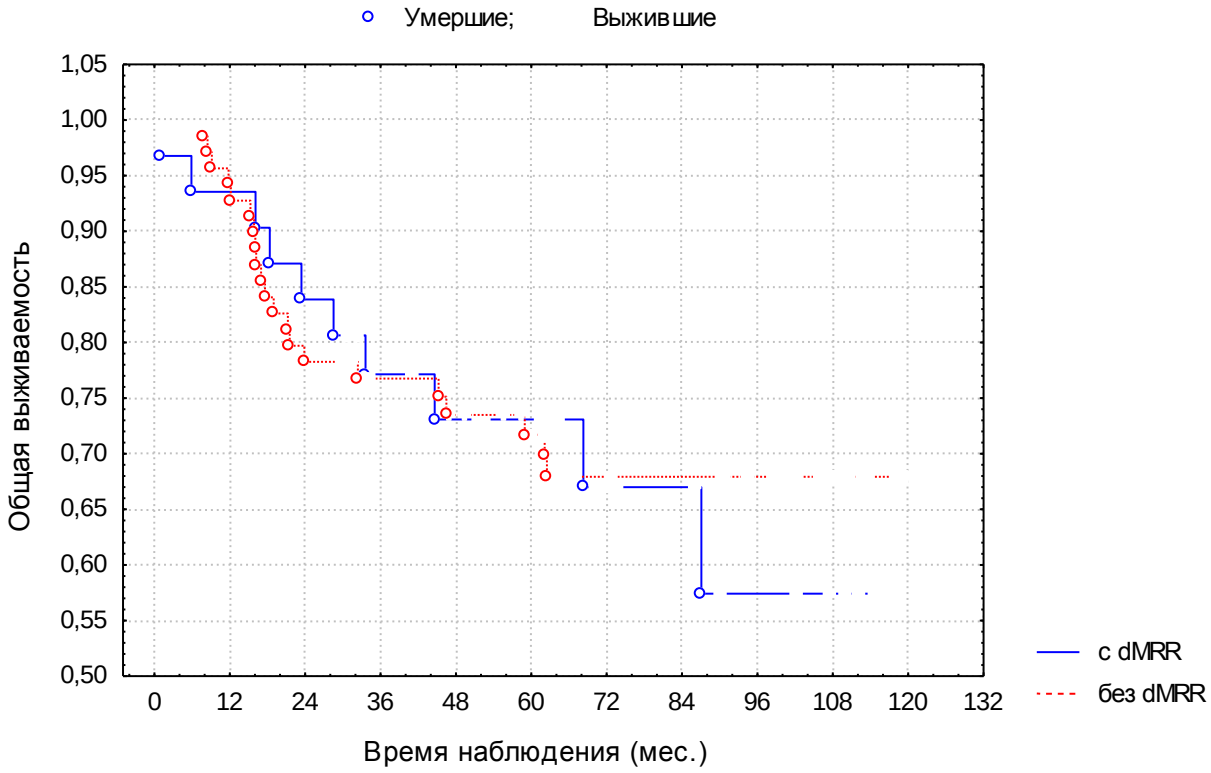


Рис. 3.6. Кривые общей выживаемости пациентов групп исследования в зависимости от наличия dMMR, n=100

Данные, иллюстрированные на рис. 3.6. свидетельствуют 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

Оценка показателя общей выживаемости у пациентов 1 группы исследования в зависимости от наличия dMMR представлена на рис. 3.7.

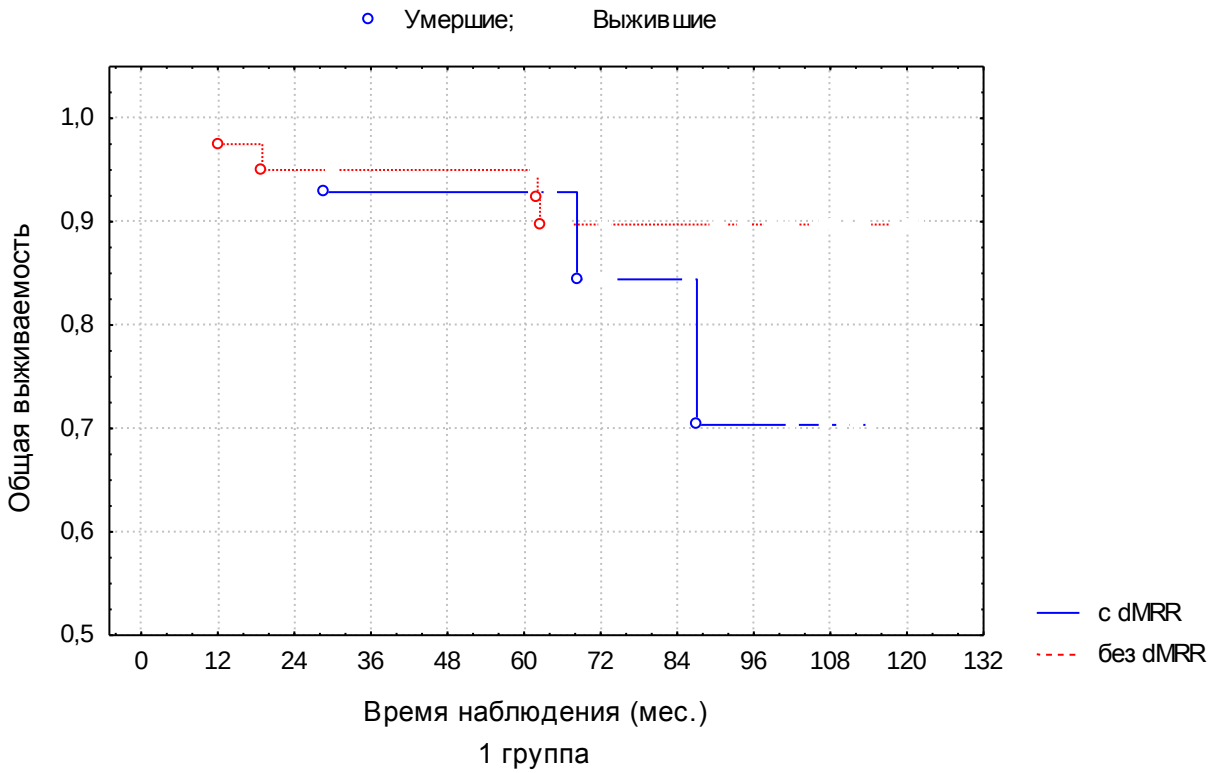


Рис. 3.7. Кривые общей выживаемости пациентов 1 группы исследования в зависимости от наличия dMMR, n=54

Анализ данных, продемонстрированных на рис. 3.7. 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.

Оценка показателя общей выживаемости у пациентов 2 группы исследования в зависимости от наличия dMMR представлена на рис. 3.8.

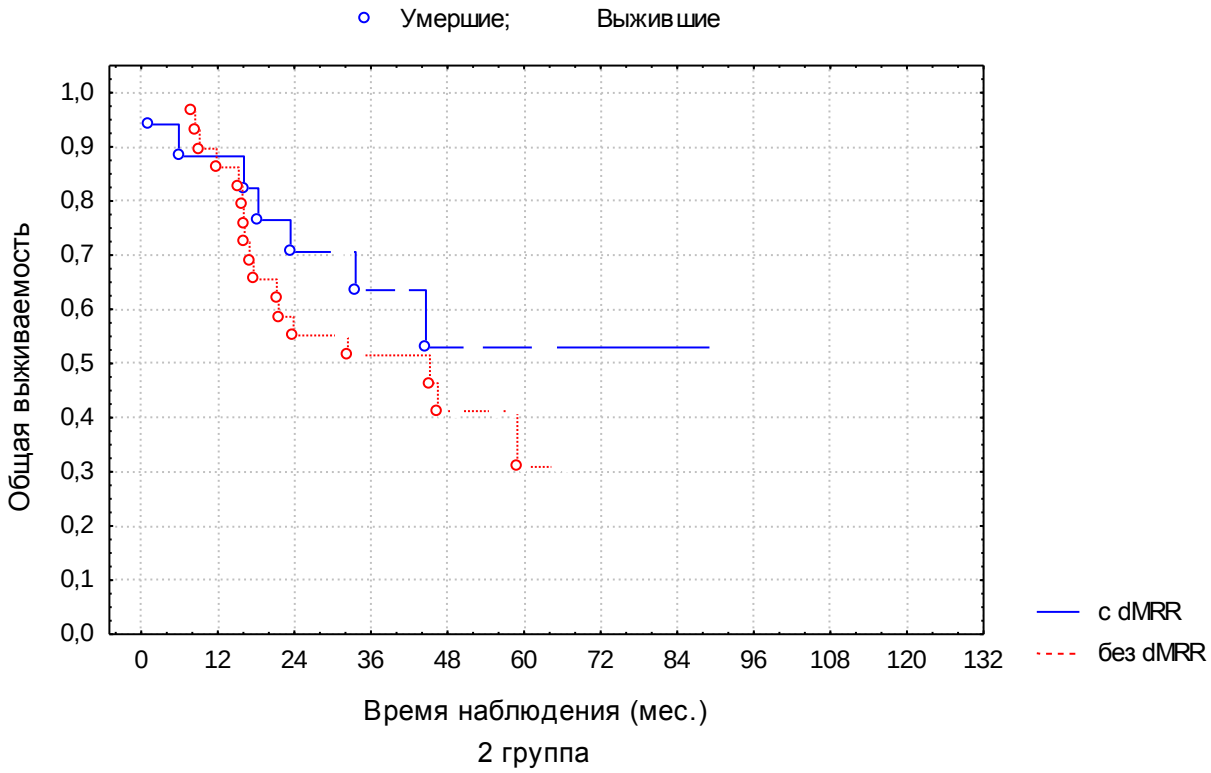


Рис. 3.8. Кривые общей выживаемости пациентов 2 группы исследования в зависимости от наличия dMMR, n=46

Анализ представленных данных на Рис.3.8 по оценке выживаемости у пациентов 2 группы исследования в зависимости от наличия dMMR показал наличие статистически значимых различий между подгруппами исследования ($p<0,03$).

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

Результаты анализа периода без прогрессирования пациенток с dMMR во второй группе пациенток представлены на Рис.3.9

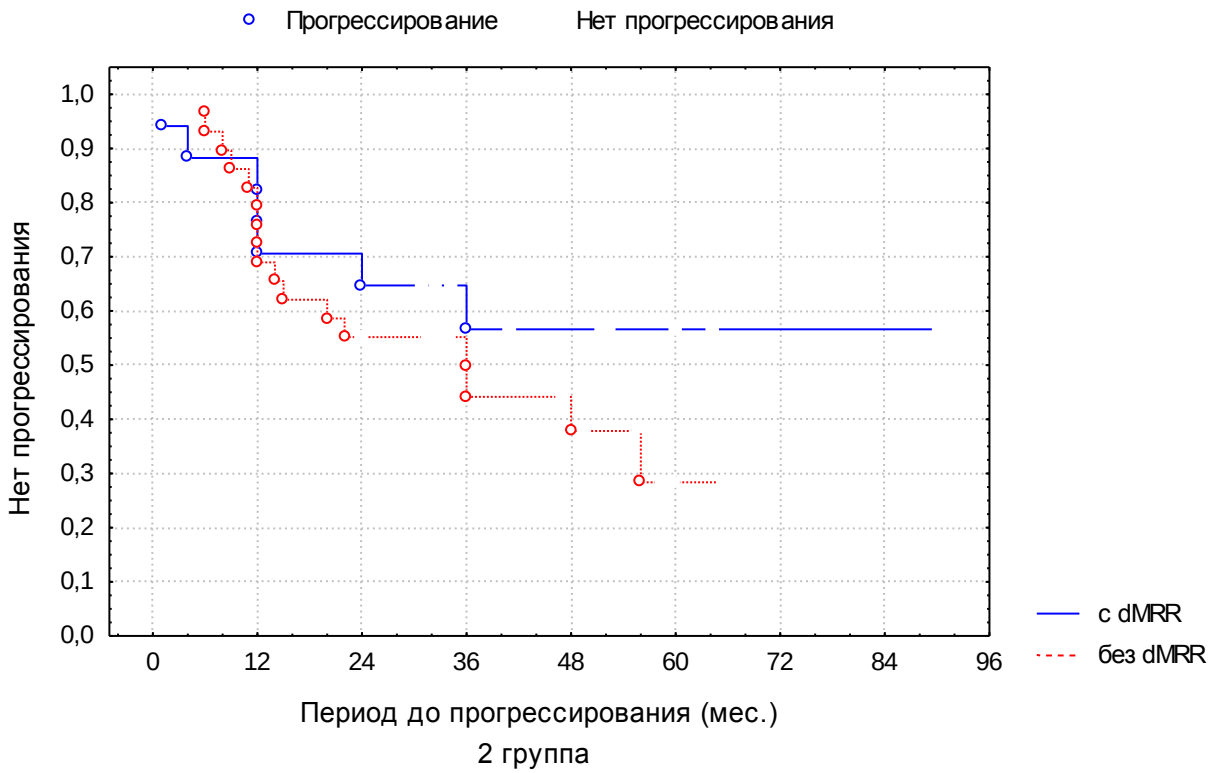


Рис. 3.9 Кривые выживаемости без прогрессирования пациентов 2 группы исследования в зависимости от наличия dMMR, n=46

Так же виявлено, что у пациенток второй группы без dMMR риск развития прогрессирования достоверно выше, при этом OR = 2,02.

По результатам проведенного исследования обращает на себя внимание достаточно высокая частота встречаемости dMMR во 2 группе, которая составила 37,0% (17 пациенток). Публикации последних лет свидетельствуют, что MMR дефицитные опухоли показывают хороший ответ на иммунотерапию в независимости от гистологического типа и локализации опухоли.

В качестве клинической иллюстрации сказанного приведем описание наблюдения пациентки Л., 53-х лет, которая впервые была госпитализирована в отделение радиохирургической гинекологии РНЦРХТ в декабре 2016 года с диагнозом: рак тела матки III С I стадии (T2CN1MxG3). После обследования пациентке выполнено оперативное лечение в объёме расширенной пангистерэктомии с резекцией большого сальника. По

результатам гистологического исследования подтвержден низкодифференцированный эндометриоидный рак эндометрия с инвазией в верхнюю треть цервикального канала и метастазами в лимфатические узлы.

После оперативного лечения больной проведен курс сочетанно-лучевой терапии до СОД=30 ГР на область регионарных лимфоузлов и СОД=70 Гр на слизистую влагалища.

Затем пациентке проведено три курса химиотерапии по схеме Паклитаксел 250мг и Карбоплатин 650мг с интервалом в месяц (апрель, май, июнь 2017г.) без осложнений, отмечалось снижение уровня Са - 125 с 20,4 до 12,3; РЭА = 1,86, а также уменьшение в объеме кистозного образования в левом параметрии.

Через 4 месяца после последней химиотерапии у пациентки возник рецидив в области культи влагалища, проведен курс брахитерапии двумя овоидами на глубине 0,5 см= 5 Гр. СОД = 30 Гр. При цитологическом исследовании после пятого сеанса брахитерапии опухолевых элементов не выявлено.

Через пять месяцев у пациентки выявлено прогрессирование заболевание – внеорганный метастаз. По данным ПЭТ/КТ в проекции подпеченочного пространства, забрюшинно визуализировалось образование, патологически накапливающее РФП, размерами до 6 см в диаметре, с SVV=16,4. Пациентке проведено комбинированное лечение: видеолапороскопия, ревизия брюшной полости, удаление внеорганной опухоли с резекцией брыжейки поперечно-ободочной кишки, большого сальника и два курса ПХТ.

После получения результата гистологического заключения – эндометриоидная аденокарцинома, пациентке проведено иммуногистохимическое исследование на предмет состояния генов репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (MSH2, MSH6, PMS2, MLH1). В результате исследования выявлен дефицит MMR в виде потери экспрессии опухолевыми клетками MLH1 и PMS2 (рис. 3.13. а, б).

Выявлено выпадение экспрессии PMS2 (а) и MLH1 (б), сохранная реакция на MSH2, MSH6 (рис. 3.13. в, г).

К моменту проведения исследования пациентка получила четыре курса анти PD-1 терапии по стандартной схеме (2 мг на кг веса) через каждые три недели.

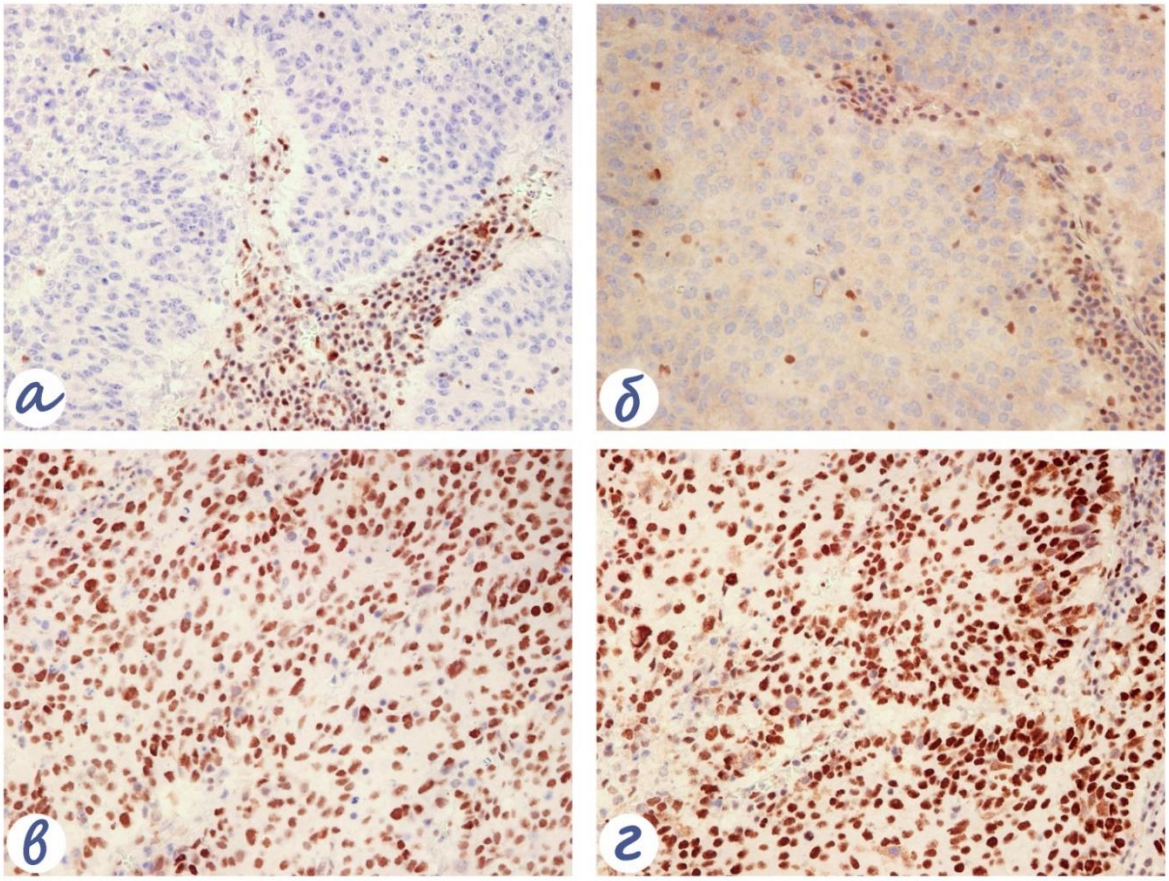
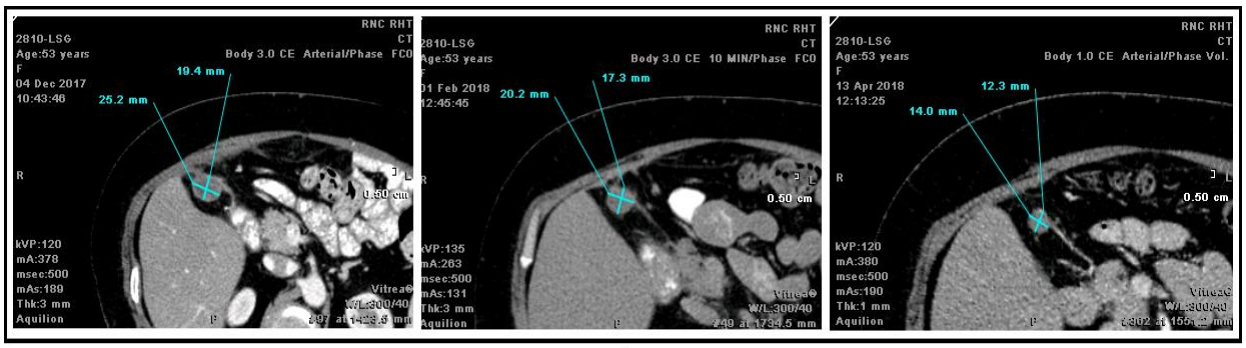


Рис. 3.13. Иммуногистохимическое исследование экспрессии генов репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (MMR) при эндометриоидной аденокарциноме. Х 200

При контрольных исследованиях компьютерной томографии отмечается частичный объективный ответ с уменьшением остаточной

опухоли с 25,2×19,4мм (рис. 3.14. а) до 14,0×12,3 мм (рис. 3.14. в), появление новых очагов не отмечено.



а **б** **в**

Рис. 3.14. Компьютерная томография до анти-PD-1 терапии (а); после трех курсов иммунотерапии (б); после четвертого курса иммунотерапии (в).

Описанный клинический случай подтверждает необходимость исследования системы репарации неспаренных нуклеотидов ДНК при эндометриоидном раке эндометрия поскольку наличие нарушений MMR можно расценивать как предиктивный фактор для проведения иммунотерапии.

Таким образом, результаты проведенного исследования показали достаточно высокую частоту встречаемости нарушения системы репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (MMR) у обследованных больных, при этом характерным было синхронное выпадение экспрессии генов репарации: структура MSI-статуса у пациенток групп исследования не имела существенных различий; показаны убедительные данные, доказывающие большие диагностические возможности метода ИГХ по сравнению с МГИ.

Характеристика по сопоставлению наличия повреждения в MMR с основными прогностическими факторами и показателями выживаемости у пациенток с ЭАЭ показала, что средний возраст пациенток с выпадением

экспрессии генов MSH2/MSH6 существенно меньше при сравнении со средним возрастом больных с выпадением экспрессии PMS2/MLH1; в подгруппе пациенток с выпадением генов репарации MSH2/MSH6 преобладали женщины в возрасте до 50 лет, тогда как при выпадении PMS2/MLH1 женщины относились к более старшей возрастной категории; у пациенток с выпадением MSH2/MSH6 с равной частотой встречались низкая и умеренная дифференцировка опухоли.

ГЛАВА 4

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

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 [44], другие – об отсутствии связи между наличием MSI и прогнозом течения заболевания [161], третьи – о благоприятном клиническом течении РЭ с MSI [36].

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%), что согласуется с исследованиями, проведенными Kartashov S. и соавт. [81].

В группе с локализованной формой рака (первая группа) почти у 26% обследованных отмечено нарушение генов репарации. В группе с распространённой же формой рака (второй группе исследования) выпадение экспрессии генов репарации встречалось почти в 1,4 раза чаще и составило 37%. Таким образом, распространенная форма рака чаще показывала нарушение MMR.

Однако, что интересно, когда в этих группах был проведен сравнительный анализ общей выживаемости в зависимости от состояния MMR, то при локализованной форме рака различий выявлено не было (79,8% 90% соответственно), что, вероятно, связано с общим благоприятным течением ранней формы эндометриоидной аденокарциномы эндометрия.

При распространённой же форме ЭАЭ выживаемость была достоверно выше в группе с dMMR в отличии пациенток без dMMR (53% и 31%

соответственно). Это особенно интересно еще и потому, что в целом, разницы в выживаемости при ЭАЭ в зависимости от статуса MMR по данным литературы нет, но в этих исследованиях не разделяли пациентов на подгруппы с распространенной и локализованной формой.

Полученные различия в выживаемости при распространенной форме ЭАЭ важны еще и потому, что могут иметь значение для планирования стратегии лечения. Так при dMMR раке желудка и толстой кишки показана неэффективность использования химиотерапии, а по ряду исследования химиотерапия приводила к преждевременной смерти данных пациентов, в то же время без лечения пациенты с dMMR жили дольше всех остальных групп. Уже доказана эффективность иммунотерапии при dMMR опухолях в независимости от локализации рака, поэтому, учитывая все вышеперечисленное, анти-PD1 терапия должна заменить химиотерапию у пациенток раком эндометрия с dMMR .

Рядом исследований установлено, что при мутации хотя бы одного из генов системы репарации (MSH2, MLH1, MSH6, PMS2) риск развития рака тела матки составляет около 30% [102]. Выявлено, что MSI в большей степени характерна для РЭ I типа [39,47].

В настоящем исследовании у 35 женщин с dMMR по данным ИГХ проведено молекулярно-генетическое исследование (МГИ) с определением MSI-статуса. Структура MSI-статуса у пациенток групп исследования не имела существенных различий. Оценивая пациентов 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 пациентов 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.

Следует отметить, что по данным сравнительного анализа отмечена тенденция к более высокой частоте встречаемости MSI-low у женщин с распространенной формами ЭАЭ, однако уровня статистически значимых различий указанные изменения не достигли (все $p>0,05$).

В исследованиях отмечено, что MMR-протеины функционируют в виде гетеродимеров [78]. MLH1 димеризуется с PMS2, формируя MutLα [68]. MLH1 – облигатный партнер PMS2, соответственно, нарушение структуры MLH1 приводит к разрушению димера и потере экспрессии второго белка. В настоящем исследовании при анализе данных MSI и MMR у пациенток с ЭАЭ установлена синхронное выпадение PMS2/MLH1, а также достоверно более высокая частота встречаемости выпадения PMS2/MLH1, которая составила 65,7% ($p<0,01$).

Дальнейший анализ MSI-статуса среди всех пациенток с выпадением генов репарации и сопоставление данных с результатами ИГХ исследования показал, что у 79% пациенток с MSI высокой степени диагностировано синхронное выпадение PMS2/MLH1 ($p<0,05$). Кроме того, у 50% женщин с MSI низкой степени отмечено выпадение PMS2/MLH1, однако уровня статистически значимых различий при сравнении указанных данных не получено. Эти данные свидетельствует о тенденции к более высокой частоте встречаемости потери экспрессии PMS2/MLH1 при MSI у женщин с ЭАЭ. Также по данным литературы достаточно высокая частота встречаемости потери экспрессии, в частности, MLH1 и как следствие развитие микросателлитной нестабильности при раке толстой кишки [67,132,138].

Интересными представляются результаты оценки структуры MSS, которые свидетельствуют об отсутствии микросателлитной нестабильности по данным ПЦР. Так, у 9 женщин с диагностированной MSS по данным ПЦР отмечены изменения по результатам ИГХ, а именно в 6 случаях выявлено 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.

Однако особую настороженность вызывают результаты, полученные по сопоставлению результатов ИГХ и ПЦР у женщин обеих групп исследования и свидетельствующие о том, что у 7 (20,0%) женщин с диагностированным выпадением MMR генов по результатам ПЦР определен статус MSS. Указанные данные свидетельствуют о том, что в каждом пятом случае ПЦР не позволяет диагностировать dMMR/MSI у пациенток с ЭАЭ. О клинической и дифференциально-диагностической значимости ИГХ и ПЦР достаточно исследований, но до настоящего времени единого мнения и подхода к показаниям, кратности, последовательности и срокам проведения этих исследований нет [27,51,150].

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 по сопоставлению наличия повреждения в MMR с основными диагностическими факторами (возраст больных, степень дифференцировки опухоли) позволили выявить следующие существенные закономерности. У пациенток 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 пациенток с выпадением экспрессии генов MSH2/MSH6 составил 42,3±4,15 года, что существенно меньше, чем у пациенток 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 пациентов 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.

На сегодняшний день нет единого мнения относительно точной возрастной отметки, позволяющей разделить больных раком эндометрия на «молодых» и пациентов старшей возрастной группы. Большинство авторов считают пограничным значением 50-летие больных, что обусловлено общепопуляционными скрининговыми наблюдениями, однако данное число продолжает варьировать в различных исследованиях [15].

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.

Исследований, посвященных оценке прогностической значимости MSI достаточно в литературе и многие из этих работ посвящены изучению рака толстого кишечника (РТК). Так, установлено, что при II стадии РТК MSI выявляется в 22% случаев, при III стадии — в 12%, при IV — в 2% [90]. Эти данные дают основание предполагать, что опухоли с высоким уровнем MSI не склонны к метастазированию и имеют благоприятный прогноз. Так же в большинстве ретроспективных исследований высокий уровень MSI ассоциирован с более высокими показателями выживаемости при РТК [65,125]. Эти находки были подтверждены результатами метаанализа 32 исследований, доказавших прогностическое значение уровня MSI у 7 642

больных [119]. При этом в исследовании PETACC-3 данное прогностическое значение было выше у больных со II стадией, чем с III стадией заболевания [125]. А при многофакторном анализе признаков, влияющих на риск развития рецидива, в исследовании QUASAR [82] только отсутствие MSI и показатель T4 имели независимое негативное прогностическое значение.

На основе вышесказанного необходимо дальнейшее изучение MSI при раке эндометрия.

Для оценки прогностической значимости были взяты для анализа показатели 5-летней общей и безрецидивной выживаемости. Анализ показателей выживаемости пациентов групп исследования с использованием кривых выживаемости Каплан-Мейера показал, что показатели выживаемости существенно отличались в группах исследования.

Вполне очевидным представляется факт о полученной статистически значимой разницы показателя выживаемости между группой с локализованными и распространенными формами. Также вполне закономерными, учитывая принцип деления групп с учетом распространенности онкологического процесса, представляются результаты оценки средней продолжительности жизни до рецидива, которая показала наличие статистически значимых различий при сравнении между пациентками с выпадением MSH2/MSH6 в 1 и 2 группе исследования, а также при сравнении подгрупп с выпадением PMS2/MLH1.

Результаты анализа по сопоставлению показателей 5-летней общей выживаемости и наступления рецидива или прогрессирования у пациенток групп исследования в зависимости от наличия dMMR показал, что 68% женщин с dMMR и 73% без dMMR достигли уровня 5-летней выживаемости. Наличие рецидива или прогрессирования отмечено у 36% пациенток с dMMR и 30% без dMMR.

Результаты анализа по сопоставлению наличия dMMR с показателями средней длительности безрецидивного периода или средней длительности до прогрессирования, продемонстрировали, что у пациенток с dMMR средняя

длительность безрецидивного периода или средняя длительность до прогрессирования составила 58,0±6,48 месяцев.

В группе женщин с локализованными формами ЭАЭ средние значения длительности безрецидивного периода не имели принципиальных различий. У женщин с распространенными формами 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, свидетельствуют о следующих закономерностях.

В группе с локализованными формами ЭАЭ средние значения длительности безрецидивного периода в анализируемых подгруппах не имели принципиальных различий. У женщин с распространенными формами ЭАЭ средние значения длительности времени до прогрессирования в анализируемых подгруппах составили, соответственно – 39,2±4,99 и 15,0±3,00 месяцев. Указанные различия достигали уровня статистической значимости ($p<0,05$).

Результаты анализа по сопоставлению вида dMMR с показателями средней длительности безрецидивного периода или средней длительности до прогрессирования свидетельствуют, что у всех обследованных пациенток с выпадением MSH2/MSH6 средняя длительность жизни до наступления рецидива или прогрессирования заболевания составила 66,7±4,26 месяцев, а у больных с выпадением PMS2/MLH1 67,9±4,18 месяцев и при сравнении не достигала уровня статистически значимых различий.

Оценка показателей общей выживаемости у всех исследуемых пациенток в зависимости от наличия dMMR свидетельствуют об отсутствии статистически значимой разницы, $p>0,5$. Пациентки с dMMR имели показатели 5-летней выживаемости существенно не отличающийся от

пациенток без dMMR. Однако при оценке общей 5-летней выживаемости в зависимости от наличия dMMR внутри групп получены другие данные.

Оценка показателя выживаемости у пациенток 1 группы исследования в зависимости от наличия dMMR демонстрирует отсутствие статистически значимой разницы в показателях 5-летней выживаемости у пациенток 1 группы исследования в зависимости от наличия dMMR, $p>0,05$, а данные по оценке выживаемости у пациентов 2 группы исследования в зависимости от наличия dMMR показывают наличие статистически значимых различий между подгруппами исследования, $p<0,03$.

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

По результатам проведенного исследования обращает на себя внимание достаточно высокая частота встречаемости dMMR в распространённой 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, что подтверждается клиническим примером, приведенным в настоящем исследовании.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное исследование показало 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 выпадение экспрессии генов репарации.

Характеристика по сопоставлению наличия повреждения в MMR с основными прогностическими факторами и показателями выживаемости у пациенток с ЭАЭ показала, что среди пациенток с выпадением генов репарации MSH2/MSH6 преобладали женщины в возрасте до 50 лет, тогда как при выпадении PMS2/MLH1 женщины относились к более старшей возрастной категории.

Проведенный в исследовании анализ общей выживаемости при ЭАЭ в зависимости от статуса MMR показал, что при распространенной форме ЭАЭ выживаемость была достоверно выше в группе с дефицитом MMR.

Определение дальнейших молекулярных особенностей этих опухолей поможет выделить подгруппы больных, которые, вероятно, будут по-разному отвечать на ХТ. В заключение можно сказать, 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-летнняя 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 – 31%, $p<0,03$. 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%). Почти 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.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Берлев, И.В. Лапароскопическая хирургия в лечении рака эндометрия / И.В. Берлев, С.Я. Максимов, Е.А. Некрасова, А.С. Хаджимба, М.В. Каргополова, А.Ф. Урманчеева, А.М. Беляев // Вопросы онкологии. — 2011. — Т. 57, №6 (57). — С. 731-736;
2. Берлев, И.В. Сравнительный анализ хирургического лечения рака эндометрия лапароскопическим и традиционным лапаротомным доступами / И.В. Берлев, А.Ф. Урманчеева, С.Я. Максимов [и др.] // Сибирский онкологический журнал. — 2012. — Т.54, №6. — С. 32-36;
3. Берлев, И.В. Эндовидеохирургия (минимальная инвазивная хирургия) в лечении злокачественных опухолей женских половых органов: 5-летний опыт клиники ФгБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России / И.В. Берлев, Е.А Ульрих, Е.А. Некрасова [и др.] // Вопросы онкологии. — 2016. — N/62, №2. — С. 196-207;
4. Бохман, Я.В. Руководство по онкогинекологии / Я.В. Бохман . — М. : Медицина, 1989. — 325 с.;
5. Давыдов, М.И. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г. / М.И. Давыдов, Е.М. Аксель. — М. : Издательская группа РОНЦ, 2014. — 226 с.;
6. Имянитов, Е.Н. Особенности лекарственной чувствительности наследственных опухолей / Е.Н. Имянитов // Вопросы онкологии — 2016. — №2 (62). — Р. 221-226;
7. Исаева, А.В. β-Катенин: структура, функции и роль в опухолевой трансформации эпителиальных клеток / А.В. Исаева, А.П. Зима, И.П. Шабалова [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. — 2015. — №70 (4). — С. 475-483;
8. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В., ред. Состояние онкологической помощи населению России в 2015 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России; 2016.

9. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В., ред. Состояние онкологической помощи населению России в 2015 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России; 2016.
10. Крикунова, Л.И. Лучевая терапия рака матки / Л.И. Крикунова // Практическая онкология. — 2004. — №5 (1). — С. 33-40;
11. Нечушкина, В.М. Адъювантная лучевая терапия при раке тела матки ранних стадий / В.М. Нечушкина, К.Ю. Морхов, В.В. Кузнецов // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. — 2012. — Т.23, №4. — С. 33-40;
12. Нечушкина, В.М. Комбинированное лечение рака тела матки ранних стадий / В.М. Нечушкина, К.Ю. Морхов, В.В. Кузнецов // Сибирский онкологический журнал. — 2013. — №3. — С. 70-74;
13. Нечушкина, В.М. Эволюция лечения рака тела матки / В.М. Нечушкина, К.Ю. Морхов, В.В. Кузнецов // Злокачественные опухоли. — 2016. — №4, спецвыпуск 1. — С. 92-98;
14. Новикова, Е.Г. Оправдано ли «агрессивное» лечение у больных раком тела матки I стадии / Е.Г. Новикова, А.В. Бойко, Е.А. Дунаева [и др.] // Сибирский онкологический журнал. — 2007. — Приложение 1. — С. 69-76;
15. Новикова, Е.Г. Современные подходы к лечению больных с пограничными опухолями яичников / Е.Г. Новикова, А.С. Шевчук // Онкогинекология. — 2014. — №4. — С. 45-58;
16. Состояние онкологической помощи населению России в 2015 году / под ред. А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова; — М. : МНИОИ им. П.А. Герцена, 2015. — 236 с.;
17. Спирина, Л.В. Активность протеасом и содержание ростовых факторов при раке почки, мочевого пузыря и эндометрия / Л.В. Спирина, И.В. Кондакова, Е.А. Усынин [и др.] // Российский онкологический журнал. — 2010. — №1. — С. 23-25;

18. Титова В.А., Столярова И.В., Крейнина Ю.М. Современные технологии комплексного лечения рака эндометрия. М-СПб Фолиант 2012г. 168 с.
19. Титова В.А., Столярова И.В., Крейнина Ю.М. Современные технологии комплексного лечения рака эндометрия. М-СПб Фолиант 2012г. 168 с.
20. Фадеева, Е.П. Влияние анастрозола на экспрессию маркеров пролиферации при раке эндометрия в эксперименте / Е.П. Фадеева, А.С. Лисянская, Р.И. Глушаков [и др.] // Malignant Tumours (Материалы IXX Российского онкологического конгресса). – 2015. – №4 (16), Приложение 2. – С.132-133;
21. Хвостова, Е.П. Молекулярно-генетические механизмы гормонального канцерогенеза женских репродуктивных органов / Е.П. Хвостова, В.О. Пустыльняк, С.Э. Красильников [и др.] // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. –2011. – Т. 9, № 3. – С. 195-203;
22. Чернышова, А.Л. Оптимизация выбора адъювантной лучевой терапии у больных раком тела матки I стадии / А.Л. Чернышова, Ж.А. Старцева, А.А. Затолокина // Сибирский онкологический журнал. — 2014. — №6. — С. 54-59;
23. Шевчук, А.С. Лапароскопическая хирургия в лечении начального рака яичников: опыт МНИОИ им. П.А. Герцена / А.С. Шевчук, Е.Г. Новикова, А.Б. Уткина // Онкогинекология. — 2015. — №3. — С. 369-375;
24. Aaldders, J. Postoperative external irradiation and prognostic parameters in stage I endometrial carcinoma: clinical and histopathologic study of 540 patients / J. Aaldders, V. Abeler, P. Kolstad [et al.] // Obstet. Gynecol. — 1980. — №56 (4). — P. 419-427.

25. Abike, F. PCNA and KI-67 in endometrial hyperplasias and evaluation of the potential of malignancy / F. Abike, O.L. Tapisiz, S. Zergeroglu [et al.] // Eur. J. Gynaecol. Oncol. — 2011. — №32 (1). — P. 77-80;
26. Abu-Rustum, N.R. Sentinel lymph node mapping for endometrial cancer: a modern approach to surgical staging // N.R. Abu-Rustum // J. natl. Compr. Canc. netw. — 2014. — №12. — P. 288-297;
27. Akhtar, M.A. Review of mechanistic studies on aromatase (CYP19) and 17α-hydroxylase-17,20-lyase (CYP17) / M. Akhtar, J.N. Wright, P. Lee-Robichaud // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. — 2011. — №1-2 (125). — P. 2-12;
28. Allison, K.H. PAX2 loss by immunohistochemistry occurs early and often in endometrial hyperplasia / K.H. Allison, K. Upson, S.D. Reed [et al.] // Int. J. Gynecol. Pathol. — 2012. — №31 (2). — P. 151-159;
29. Alvarez, T. Molecular profile of grade 3 endometrioid endometrial carcinoma: is it a type I or type II endometrial carcinoma? / T. Alvarez, E. Miller, L. Duska, et al. // Am J Surg Pathol. — 2012. — №36 (5). — P. 753–61;
30. Amanta, F. Cancer of the corpus uter / F. Amanta, M. Mirzab, C. Creutzbergc // Int J Gynecol Obstet. — 2012. — №19 (2). — P. 110-117;
31. An, H.J. Microsatellite instability in endometrioid type endometrial adenocarcinoma is associated with poor prognostic indicators / H.J. An, K.I. Kim, J.Y. Kim [et al.] // Am J Surg Pathol. — 2007. — №31 (6). — P. 846-853;
32. Antonsen, S.L. Patients with atypical hyperplasia of the endometrium should be treated in oncological centers / S.L. Antonsen, L. Ulrich, C. Høgdall // Gynecol. Oncol. — 2012. — №125 (1). — P. 124-128;
33. Backes, F.J. Prospective evaluation of DNA mismatch repair protein expression in primary endometrial cancer / F.J. Backes, M.E. Leon, I. Ivanov [et al.] // Gynecol Oncol. — 2009. — 114 (3). — P. 486-90; 2009;

34. Bansal, N. The molecular biology of endometrial cancers and implications for pathogenesis, classification, and targeted therapies / N. Bansal, V. Yendluri, R. Wenham. // Cancer Control. – 2009. – №16. – P. 8–13.
35. Berns, K. A functional genetic approach identifies the PI3K pathway as a major determinant of trastuzumab resistance in breast cancer / K. Berns, H.M. Horlings, B.T. Hennessy [и др.] // Cancer Cell. — 2007. — №12 (4). — P. 395-402;
36. Bilbao, C. Microsatellite instability predicts clinical outcome in radiation treated endometrioid endometrial cancer patients / C. Bilbao, P.C. Lara, R.Ramírez // Int J Radiat Oncol Biol Phys. — 2010. — №76 (1). — P. 9-13;
37. Blake, P. Adjuvant external beam radiotherapy in the treatment of endometrial cancer (MRCASTEC and NCIC CTG EN.5 randomised trials): pooled trial results, systematic review, and meta-analysis / ASTEC/EN.5 Study Group P. Blake, A.M. Swart, J. Orton [et al.] // Lancet. — 2009. — №373 (9658). — P. 137-46;
38. Bokhman YaV. Rukovodstvo po onkoginekologii. M.: Meditsina; 1989. 463 p. (In Russ).
39. Bokhman YaV. Rukovodstvo po onkoginekologii. M.: Meditsina; 1989. 463 p. (In Russ).
40. Bosman, F.T. WHO classification of tumors the digestive system / F.T. Bosman, F. Carneiro, R.H. Hruban at al. // IARC: Lyon – 2010. – 417 p.
41. Buhard, O.Quasimonomorphic mononucleotide repeats for high level microsatellite instability analysis / O. Buhard, N. Suraweera, A. Lectard, A. Duval, R. Hamelin // Dis. Markers. – 2004. – Vol. 20. – P.251–257.
42. Byron, S.A. FGFR2 point mutations in 466 endometrioid endometrial tumors: relationship with MSI, KRAS, PIK3CA, CTNNB1 mutations and clinicopathological features / S.A. Byron, M. Gartside, M.A. Powell [et al.] // PLoS One. — 2012. — №7 (2). — P. e30801;

43. Cade, T.J. Predictive value of magnetic resonance imaging in assessing myometrial invasion in endometrial cancer: is radiological staging sufficient for planning conservative treatment? / T.J. Cade, M.A. Quinn, O.M. McNally [et al.] // Int J Gynecol Cancer. — 2010. — №20 (7). — P. 1166-9;
44. Caduff, R.F. Clinical and pathological significance of microsatellite instability in sporadic endometrial carcinoma / R.F. Caduff, Johnston C.M., Svoboda-Newman S.M. [et al.] // Am J Pathol. — 1996. — №148 (5). — P. 1671-1678;
45. Casimiro, M.C. Overview of cyclins D1 function in cancer and the CDK inhibitor landscape: past and present / M.C. Casimiro, M.Vela sco-Velázquez, C. Aguirre-Alvarado [et al.] // Expert. Opin. Investig. Drugs. — 2014. — №3 (23). — P. 295-304;
46. Chernobrovkina AE, Svirin NA. Endometrial cancer: heterogeneity and genetic markers. Medline.ru. Rossijskij Biomeditsinskij zhurnal. 2014; 15(3):649- 71(In Russ).
47. Chernobrovkina AE, Svirin NA. Endometrial cancer: heterogeneity and genetic markers. Medline.ru. Rossijskij Biomeditsinskij zhurnal. 2014; 15(3):649- 71(In Russ).
48. Chernuha, G.E. Expression of genes which regulate apoptosis in different types of endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma / G.E. Chernuha, M.R. Dumanovskaya, O.V. Burmenskaya [et al.] // Obstetrics and Gynecology. — 2013. — №1. — P. 63-69;
49. Church, D.N. Prognostic significance of POLE proofreading mutations in endometrial cancer. JNCI / D.N. Church, E. Stelloo, R.A. Nout [et al.] // J Natl Cancer Inst. — 2015. — №107 (1). — P. 402;
50. Coenegrachts, L. Mutation profile and clinical outcome of mixed endometrioidserous endometrial carcinomas are different from that of pure endometrioid or serous carcinomas / L. Coenegrachts, D.A. Garcia-Dios, J. Depreeuw [et al.] // Virchows Archiv. — 2015. — №466 (4). — P. 415–22;

51. Colombo, N. ESMO Guidelines Working Group. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up / N. Colombo, E. Preti, F. Landoni [et al.] // Ann Oncol. — 2013. — №24 (6). — P. 33-38;
52. Coon, D. High-dose-rate Rotte "Y" applicator brachytherapy for definitive treatment of medically inoperable endometrial cancer: 10-year results / D. Coon, S. Beriwal, D.E. Heron [et al.] // Int J Radiat OncolBiol Phys. — 2008. — №71 (3). — P. 779-83;
53. Creasman, W.T. Carcinoma of the Corpus Uteri / W.T. Creasman, F. Odicino, P. Maisonneuve [et al.] // Int. J. Gynaecol. Obstet. — 2006. — №95 (1). — P. 105-114;
54. Crispens, M.A. Endometrial and ovarian cancer in lynch syndrome / M.A. Crispens. // Clin Colon Rectal Surg. — 2012. — №25. — P. 97-102;
55. Diaz-Padilla, I. Mismatch repair status and clinical outcome in endometrial cancer: a systematic review and metaanalysis / I. Diaz-Padilla, N. Romero, E. Amir [et al.] // Crit Rev Oncol Hematol. — 2013. — №8 (1). — P. 154-167;
56. Dinkelspiel, H.E. Contemporary clinical management of endometrial cancer / H.E. Dinkelspiel, J.D. Wright, S.N. Lewin [et al.] // Int Obstet Gynecol. — 2013. — №13. — P. 583891;
57. Eichhorn, P.J. Phosphatidylinositol 3-kinase hyperactivation results in lapatinib resistance that is reversed by the mTOR/phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor NVP-BEZ235 / P.J. Eichhorn, M. Gili, M. Scaltriti [et al.] // Cancer Res. — 2008. — №68 (22). — P. 9221-9230;
58. Elshaikh, M.A. Recurrence patterns and survival endpoints in women with stage II uterine endometrioid carcinoma: a multi-institution study / M.A. Elshaikh, Z. Al-Wahab, H. Mahdi [et al.] // Gynecol Oncol . — 2015. — №136. — P. 235-239;
59. European society of Gynecologic oncology About the Conservative Management of ovarian Malignant tumors FIGO. Committee on

Gynecologic Oncology. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium // Int J Gynecol Obstet. — 2009. — №105 (2). — P. 103-4;

60. Findeisen, P. T25 repeat in the 3′ untranslated region of the CASP2 gene: a sensitive and specific marker for microsatellite instability in colorectal cancer / P. Findeisen, M. Kloor, S. Merx et al. // Cancer Res. – 2005. – Vol. 65. – P.8072–8078.
61. Fleming, G.F. Phase III randomized trial of doxorubicin + cisplatin versus doxorubicin + 24-h paclitaxel + filgrastim in endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study / G.F. Fleming, V.L. Filiaci, R.C. Bentley [et al.] // Ann. Oncol. — 2004. — №8 (15). — P. 1173–1178;
62. Fleming, G.F. Phase III trial of doxorubicin plus cisplatin with or without paclitaxel plus filgrastim in advanced endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group Study / G.F. Fleming, V.L. Brunetto, D. Cella [et al.] // J. Clin. Oncol. — 2004. — №11 (22). — P. 2159–2166;
63. Gilks, C.B. Poor interobserver reproducibility in the diagnosis of high-grade endometrial carcinoma / C.B. Gilks, E. Oliva, R.A. Soslow // Am J Surg Pathol— 2013. — №37. — P. 874–881;
64. GLOBOCAN 2012: Оценка заболеваемости, смертности и распространенности рака во всем мире в 2012 году v1.0. [Электронный документ] Под ред. Ферлей Дж., Соерджомаратам И., Эрвик М., Дикшит Р., Эсер С., Мазерс С., Ребело М., Паркин Д.М., Форман Д., Брей Ф. http://publications.iarc.fr/Databases/Iarc-Cancerbases/ IARC CancerBase №11;
65. Goodfellow, P.J. Combined Microsatellite Instability, MLH1 Methylation Analysis, and Immunohistochemistry for Lynch Syndrome Screening in Endometrial Cancers From GOG210: An NRG Oncology and Gynecologic Oncology Group Study / P.J. Goodfellow, C.C. Billingsley, H.A. Lankes [et al.] // J of Clin Oncol. — 2015. — №33 (36). — P. 4301-4308.

66. Gryfe R., Kim H., Hsieh E.T. et al. Tumour microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. N Engl J Med 2000;342:6977.

67. Gryfe R., Kim H., Hsieh E.T. et al. Tumour microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. N Engl J Med 2000;342:6977.

68. Han, G. Reproducibility of histological cell type in high-grade endometrial carcinoma / G. Han, D. Sidhu, M.A. Duggan [et al.] // Mod Pathol — 2013. — №26 (5). — P. 1594–1604;

69. Helen, E. Dinkelspiel Contemporary Clinical Management of Endometrial Cancer / E. Helen Dinkelspiel, Jason D. Wright, Sharyn N. Lewin [et al.] // Hindawi Publishing Corporation Obstetrics and Gynecology International. — 2013. — №105 (2). — P. 583891;

70. Herr, A.J. Mutator suppression and escape from replication error-induced extinction in yeast / A.J. Herr, M. Ogawa, N.A. Lawrence [et al.] // PLoS Genet. — 2011. — №7 (10). — P. 1002282;

71. Hoang, L.N. Histotype-genotype correlation in 36 high-grade endometrial carcinomas / L.N. Hoang, M.K. McConechy, M. Kobel [et al.] // Am J Surg Pathol. — 2013. — №37 (9). — P. 1421-32;

72. Hoang, L.N. Immunophenotypic features of dedifferentiated endometrial carcinoma Insights from BRG1/INI1-deficient tumors / L.N. Hoang, Y.S. Lee, A.N. Karnezis [et al.] // Histopathology. — 2016. — №69 (4). — P. 560–9;

73. Hoang, L.N. Targeted mutation analysis of endometrial clear cell carcinoma / L.N. Hoang, M.K. McConechy, B. Meng [et al.] // Histopathology. — 2015. — №66 (5). — P. 664–74;

74. Howitt, B.E. Association of polymerase e-mutated and microsatellite-instable endometrial cancers with neoantigen load, number of tumor-infiltrating lymphocytes, and expression of PD-1 and PD-L1 / B.E. Howitt,

S.A. Shukla, L.M. Sholl [et al.] // JAMA Oncol. — 2015. — №1 (9). — P. 1319-1323;

75. Hussein, Y.R. Clinicopathological analysis of endometrial carcinomas harboring somatic POLE exonuclease domain mutations / Y.R. Hussein, B. Weigelt, D.A. Levine [et al.] // Mod Pathol. — 2014. — №28 (4). — P. 505-514;
76. Jemal, A. Cancer statistics / A. Jemal, Siegel R., Ward E. [et al.] // CA Cancer J Clin — 2009. — №59 (4). — P. 225-49;
77. Jin, Y.H. Cadmium is a mutagen that acts by inhibiting mismatch repair / Y.H. Jin, A.B. Clark, R.J. Slebos [et al.] // Nat Genet. — 2003. — №34 (3). — P. 326-329;
78. Kanat-Pektas, M. Predictive power of sexual hormones and tumor markers in endometrial cancer / M. Kanat-Pektas, O. Yenicesu, T. Gungor [et al.] // Arch Gynecol Obstet — 2010. — №281 (4). — P. 709–15;
79. Kandoth, C. The Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma / C. Kandoth, N. Schultz, A.D. Cherniack [et al.] // Nature. — 2013. — №497 (7447). — P. 67-73;
80. Kartashov S, Oleshko EM, Ivchenko AL. The major predictive factors of microsatellite instability at patients with endometrium cancer. Novoobrazovaranie (Neoplasm). 2012; 1-2:292-5(In Russ).
81. Kartashov S, Oleshko EM, Ivchenko AL. The major predictive factors of microsatellite instability at patients with endometrium cancer. Novoobrazovaranie (Neoplasm). 2012; 1-2:292-5(In Russ).
82. Kerr D., Gray R., Quirke P. et al. A quantitative multigene RT-PCR assay for prediction of recurrence in stage II colon cancer: selection of the gene in four large studies and results of the independent, prospectively designed QUASAR validation study. J Clin Oncol 2009;25(15 Suppl):169s.
83. Kerr D., Gray R., Quirke P. et al. A quantitative multigene RT-PCR assay for prediction of recurrence in stage II colon cancer: selection of the gene in

four large studies and results of the independent, prospectively designed QUASAR validation study. J Clin Oncol 2009;25(15 Suppl):169s.

84. Kinzler, K.W. Lessons from hereditary colorectal cancer / K.W. Kinzler, B. Vogelstein // Cell. – 1996. – Vol. 87. – P. 159-170.

85. Kinzler, K.W. Lessons from hereditary colorectal cancer / K.W. Kinzler, B. Vogelstein // Cell. – 1996. – Vol. 87. – P. 159-170.

86. Kitajima, K. Preoperative nodal staging of uterine cancer: is contrast-enhanced PET/CT more accurate than non-enhanced PET/CT or enhanced CT alone? / K. Kitajima, K. Suzuki, M. Senda [et al.] // Ann Nucl Med. — 2011. — №27 (7). — P. 511-9;

87. Kitchener, H. Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomised study / H. Kitchener, A.M. Swart, Q. Qian [et al.] // Lancet. — 2009. — №373 (9658). — P. 125-36;

88. Klopp, A. The role of postoperative radiation therapy for endometrial cancer: executive summary of an american society for radiation oncology evidence-based guideline / A. Klopp, B.D. Smith, K. Alektiar [et al.] // Pract Radiat Oncol. — 2014. — №4. — P. 137-144;

89. Konopka, B. Molecular genetic defects in endometrial carcinomas: microsatellite instability, PTEN and betacatenin (CTNNB1) genes mutations / B. Konopka, A. Janiec-Jankowska, D. Czapczak [et al.] // J Cancer Res Clin Oncol. — 2007. — №133 (6). — P. 361-371;

90. Koopman M., Kortman G.A., Mekenkamp L. et al. Deficient mismatch repair system in patients with sporadic advanced colorectal cancer. Br J Cancer 2009;100:26673.

91. Koopman M., Kortman G.A., Mekenkamp L. et al. Deficient mismatch repair system in patients with sporadic advanced colorectal cancer. Br J Cancer 2009;100:26673.

92. Krakstad, C. High-throughput mutation profiling of primary and metastatic endometrial cancers identifies KRAS, FGFR2 and PIK3CA to be frequently

mutated / C. Krakstad, E. Birkeland, D. Seidel [et al.] // PloS one. — 2012. — №7 (12). — P. e52795;

93. Krill, L.S. Robotic surgery: gynecologic oncology / L.S. Krill, R.E. Bristow // Cancer J. — 2013. — №19 (2). — P. 167-76;

94. Kuhn, E. Identification of molecular pathway aberrations in uterine serous carcinoma by genome-wide analyses / E. Kuhn, R.C. Wu, B. Guan [et al.] // JNCI: J Natl Cancer Inst. — 2012. — №104 (19). — P. 1503-1513;

95. Kurman, Robert J. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs / Robert J. Kurman, Maria Luisa Carcangiu, C. Simon Herrington. — Lyon : IARC, 2014. — 307 c.;

96. Kwon, J.S. Testing women with endometrial cancer to detect Lynch syndrome / J.S. Kwon, J.L. Scott, C.B. Gilks [et al.] // J ClinOncol. — 2011. — №29 (16). — P. 2247-52;

97. Lax, S.F. The frequency of p53, K-ras mutations, and microsatellite instability differs in uterine endometrioid and serous carcinoma: evidence of distinct molecular genetic pathways / S.F. Lax, B. Kendall, H. Tashiro [et al.] // Cancer. — 2000. — №88 (4). — P. 814-824;

98. Le Gallo, M. The emerging genomic landscape of endometrial cancer / M. Le Gallo, D.W. Bell // Clin. Chem. — 2014. — №60 (1). — P. 98-110;

99. Lindemann K. Long-term survival after radiation therapy for early stage endometrial carcinoma: the Oslo study revisited / K. Lindemann, M. Onsrud, C.G. Tropé, [et al.] // Int. J. Gynecol. Cancer. — 2012. — №22 (8). — P. 111;

100. Lindor, N.M. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing in phenotyping colorectal tumors / N.M. Lindor, L.J. Burgart, O. Leontovich et al. // J. Clin. Oncol. – 2002. – Vol. 20. – P.1043–1048.

101. Lippman SM, Hawk ET. Cancer prevention: from 1727 to Milestones of the past 100 years. Cancer Res. 2009; 69(13):5269-84. doi: 10.1158/0008-5472.

102. Lippman SM, Hawk ET. Cancer prevention: from 1727 to Milestones of the past 100 years. Cancer Res. 2009; 69(13):5269-84. doi: 10.1158/0008-5472.

103. Liu, B. Analysis of mismatch repair genes in hereditary non-polyposis colorectal cancer patients / B. Liu, R. Parsons, N. Papadopoulos et al. // Nat. Med. – 1996. – Vol. 2. – P.169–174.

104. Loeb, L.A. Human cancers express mutator phenotypes: origin, consequences and targeting / L.A. Loeb // Nat Rev Cancer. — 2013. — №13. — P. 450-457;

105. Loi, S. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98 / S. Loi, N. Sirtaine, F. Piette [et al.] // J Clin Oncol. — 2013. — №13. — P. 860-867;

106. Maggi, R. Adjuvant chemotherapy vs radiotherapy in high-risk endometrial carcinoma: results of a randomised trial / R. Maggi, A. Lissoni, F. Spina [et al.] // Br. J. Cancer. — 2006. — №3 (95). — P. 266-271;

107. McAlpine, J. The rise of a novel classification system for endometrial carcinoma; integration of molecular subclasses / J. McAlpine, A. Leon-Castillo, T. Bosse // Journal of Pathology — 2018. — №244. — P. 538–549;

108. McConechy, M.K. Ovarian and endometrial endometrioid carcinomas have distinct CTNNB1 and PTEN mutation profiles / M.K. McConechy, J. Ding, J. Senz [et al.] // Mod Pathol. — 2014. — №27 (1). — P. 128–34;

109. McConechy, M.K. Use of mutation profiles to refine the classification of endometrial carcinomas / M.K. McConechy, J. Ding, M.C. Cheang [et al.] // J Pathol. — 2012. — №228 (1). — P. 20-30;

110. McElhinny, S.A. Division of labor at the eukaryotic replication fork / S.A. McElhinny, D.A. Gordenin, C.M. Stith [et al.] // Mol Cell. — 2008. — №13. — P. 137-144; 2008;

111. Mei, Z. Tumour-infiltrating inflammation and prognosis in colorectal cancer: systematic review and meta-analysis / Z. Mei, Y. Liu, C. Liu [et al.] // Br J Cancer. — 2014. — №110 (6). — P. 1595-1605;

112. Miller, D. Randomized phase III noninferiority trial of first line chemotherapy for metastatic recurrent endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study / D. Miller, V. Filiaci, G. Fleming [et al.] // Gynecol. Oncol. — 2012. — №3 (125). — P. 771;

113. Morice, P. Recommendations of the Fertility task Force of the European Society of Gynecologic Oncology about the conservative management of ovarian malignant tumors / P. Morice, D. Denschlag, A. Rodolakis [et al.] // Int. J. Gynecol. Cancer. — 2013. — №21. — P. 951-63;

114. Mourits, M.J. Safety of laparoscopy versus laparotomy in early stage endometrial cancer: a randomised trial / M.J. Mourits, C.B. Bijen, H.J. Arts [et al.] // Lancet Oncol. — 2010. — №11 (8). — P. 763-71;

115. Myers, A.P. New strategies in endometrial cancer: targeting the PI3K/mTOR pathway–the devil is in the details / A.P. Myers // Clin Cancer Res. — 2013. — №19 (19). — P. 5264–74;

116. NCCN Clinical Practice Guidelines In Oncology Uterine Neoplasms. Version 3.2012 [Электронный ресурс] URL: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/uterine.pdf (дата обращения: 01.10.12);

117. Neumann, J. A simple immunohistochemical algorithm predicts the risk of distant metastases in right-sided colon cancer / J. Neumann, D. Horst, L. Kriegl et al. // Histopathology.– 2012. – Vol. 60, №3. – P.416-26.

118. Ortashi, O. Evaluation of the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of preoperative magnetic resonance imaging for staging endometrial cancer. A prospective study of 100 cases at the Dorset Cancer Centre / O. Ortashi, S. Jain, O. Emannuel [et al.] // Eur J ObstetGynecolReprod Biol. — 2008. — №137 (2). — P. 232-5;

119. Palomba, S. Laparoscopic treatment for endometrial cancer: mete-analysis of andomized trials (RCts) / S. Palomba, A. Falbo, R. Mocciaaro [et al.] // Gynecol. oncol. — 2009. — №112. — P. 415-421;

120. Parsons, R. Microsatellite instability and mutations of the Transforming Growth Factor β Type II Receptor gene in colorectal cancer / R. Parsons, L.L. Myeroff, B. Liu et al. // Cancer Res. – 1995. – Vol. 55. – P.5548–5550.

121. Pieczyńska B. Analysis of PTEN, estrogen receptor α and progesterone receptor expression in endometrial hyperplasia using tissue microarray / B. Pieczyńska, S. Wojtylak, A. Zawrocki [et al.] // Pol. J. Pathol. — 2011. — №62 (3). — P. 133-138;

122. Piedmonte, M.R. Recurrence and survival after random assignment to laparoscopy versus laparotomy for comprehensive surgical staging of uterine cancer: Gynecologic Oncology Group LAP2 Study / M.R. Piedmonte, N.M. Spirtos, S.M. Eisenkop [et al.] // J ClinOncol. — 2012. — №30 (7). — P. 695-700;

123. Popat S., Hubner R., Houlston R.S. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. J Clin Oncol 2005;23:60918.

124. Popat S., Hubner R., Houlston R.S. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. J Clin Oncol 2005;23:60918.

125. Pursell, Z.F. Yeast DNA polymerase epsilon participates in leading-strand DNA replication / Z.F. Pursell, I. Isoz, E.B. Lundström [et al.] // Science. — 2007. — №317 (5834). — P. 127-130;

126. Randall, M. Randomized phase III trial of WART versus doxorubicin and cisplatin chemotherapy in advanced endometrial carcinoma: a GOG study / M. Randall, V. Filiaci, H. Muss [et al.] // J. Clin. Oncol. — 2006. — №1 (24). — P. 36-44;

127. Rayner, E. A panoply of errors: polymerase proofreading domain mutations in cancer / E. Rayner, I.C. van Gool, C. Palles [et al.] // Nat Rev Cancer. — 2016. — №16 (2). — P. 71-81;

128. Resnick, K.E. Current and emerging trends in Lynch syndrome identification in women with endometrial cancer / K.E. Resnick, H. Hampel, R. Fishel [et al.] // GynecolOncol. — 2009. — №114 (1). — C. 128-34;

129. Ribic C.M., Sargent D.J., Moore M.J. et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracilbased adjuvant chemotherapy for colon cancer. N Engl J Med 2003;349(3):24757.

130. Ribic C.M., Sargent D.J., Moore M.J. et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracilbased adjuvant chemotherapy for colon cancer. N Engl J Med 2003;349(3):24757.

131. Roth A.D., Tejpar S., Yan P. et al. Stagespecific prognostic value of molecular markers in colon cancer: Results of the translational study on the PETACC3 — EORTC 40993-SAKK 60-00 trial. J Clin Oncol (meeting abstract) 2009;27:4002.

132. Roth A.D., Tejpar S., Yan P. et al. Stagespecific prognostic value of molecular markers in colon cancer: Results of the translational study on the PETACC3 — EORTC 40993-SAKK 60-00 trial. J Clin Oncol (meeting abstract) 2009;27:4002.

133. Ruan, A.J. Endomertial cancer / A.J. Ruan, B. Susil, T.W. Jobling [et al.] // Cell Tissue Res. — 2005. — №322. — P. 53-61;

134. Salvesen, H.B. Markers for individualised therapy in endometrial carcinoma / H.B. Salvesen, I.S. Haldorsen, J. Trovik // Lancet Oncol. — 2012. — №13 (8). — P. 353–61;

135. Santacana, M. A 9-protein biomarker molecular signature for predicting histologic type in endometrial carcinoma by immunohistochemistry / M. Santacana, O. Maiques, J. Valls [et al.] // Hum Pathol. — 2014. — №45 (12). — P. 2394–403;

136. Sargent D.J., Marsoni S., Monges G. et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. J Clin Oncol 2010;28(20):321926.

137. Sargent D.J., Marsoni S., Monges G. et al. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. J Clin Oncol 2010;28(20):321926.

138. Sheikh MA, Althouse AD, Freese KE, Soisson S, Edwards RP, Welburn S, Sukumvanich P, Comerci J, Kelley J, LaPorte RE, Linkov F. USA Endometrial Cancer Projections to 2030: should we be concerned. Future Oncol. 2014;10 (16:2561–2568).

139. Sheikh MA, Althouse AD, Freese KE, Soisson S, Edwards RP, Welburn S, Sukumvanich P, Comerci J, Kelley J, LaPorte RE, Linkov F. USA Endometrial Cancer Projections to 2030: should we be concerned. Future Oncol. 2014;10 (16:2561–2568).

140. Sheikh, M.A. USA Endometrial Cancer Projections to 2030: should we be concerned / M.A. Sheikh, A.D. Althouse, K.E. Freese [et al.] // Future Oncol. — 2014. — №10 (16). — P. 2561-2568;

141. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. CA. 2015; 65(1):5-29.

142. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. CA. 2015; 65(1):5-29.

143. Siegel, R.L. Cancer statistics / R.L. Siegel, K.D. Miller, A. Jemal Cancer statistics // CA. — 2015. — №65 (1). — P. 5-29;

144. Steinbakk, A. Molecular biomarkers in endometrial hyperplasias predict cancer progression / A. Steinbakk, E. Gudlaugsson, O.G. Aasprong [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. — 2011. — №204 (4). — P. 357e1 - 357e12;

145. Stelloo, E. Improved risk assessment by integrating molecular and clinicopathological factors in early-stage endometrial cancer-combined

analysis of the PORTEC cohorts / E. Stelloo, R.A. Nout, E.M. Osse [et al.] // Clin Cancer Res. — 2016. — №22. — P. 4215–4224;

146. Stelloo, E. Refining prognosis and identifying targetable pathways for high-risk endometrial cancer; a TransPORTEC initiative / E. Stelloo, T. Bosse, R.A. Nout [et al.] // Mod Pathol. — 2015. — №28 (6). — P. 836-844;

147. Suraweera, N. Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR / N. Suraweera, A. Duval, M. Reperant et al. // Gastroenterology. - 2002. – Vol.123. – P.1804–1811.

148. Susumu, N. Randomized phase III trial of pelvic radiotherapy versus cisplatinbased combined chemotherapy in patients with intermediate and high-risk endometrial cancer: a Japanese Gynecologic Oncology Group study / N. Susumu, S. Sagae, Y. Udagawa [et al.] // Gynecol. Oncol. — 2008. — №1 (108). — P. 226-233;

149. Takano, M. Identification of potential serum markers for endometrial cancer using protein expression profiling / M. Takano, Y. Kikuchi, T. Asakawa [et al.] // J Cancer Res Clin Oncol — 2010. — №136 (3). — P. 475–81;

150. Talhouk, A. A clinically applicable molecular-based classification system for endometrial cancers / A. Talhouk, M.K. McConechy, S. Leung [et al.] // J Clin Oncol. — 2015. — №113 (2). — P. 299-310;

151. Talhouk, A. Confirmation of ProMisE: a simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer / A. Talhouk, M.K. McConechy, S. Leung [et al.] // Cancer. — 2017. — №123. — P. 802-813;

152. Talhouk, A. Molecular classification of endometrial carcinoma on diagnostic specimens is highly concordant with final hysterectomy: earlier prognostic information to guide treatment / A. Talhouk, L.N. Hoang, M.K. McConechy [et al.] //Gynecol Oncol. — 2016. — №143 (1). — P. 46-53;

153. Twyman-Saint, Victor C. Radiation and dual checkpoint blockade activate non-redundant immune mechanisms in cancer / C. Twyman-Saint Victor, A.J. Rech, A. Maity [et al.] // Nature. — 2015. — №520 (7547). — P. 373-377;

154. Umar, A. Revised Bethesda guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability / A. Umar, C.R. Boland, J.P. Terdiman [et al.] // J Natl Cancer Inst. — 2004. — №96 (4). — P. 261-8;

155. Van den Bosch, T. Screening for uterine tumours / T. Van den Bosch, A. Coosemans, M. Morina [et al.] // Best Pract Res ClinObstetGynaecol. — 2012. — №26 (2). — P. 257-66;

156. Van Gool, I.C. POLE proofreading mutations elicit an antitumor immune response in endometrial cancer / I.C. Van Gool, F.A. Eggink, L. Freeman-Mills [et al.] // Clin Cancer — 2015. — №21 (14). — P. 3347-3355;

157. Vilar, E. Microsatellite instability in colorectal cancer-the stable evidence / E. Vilar, S.B. Gruber // nat Rev Clin oncol. — 2013. — №7. — P. 153-162;

158. Wik, E. Endometrial Carcinoma Recurrence Score (ECARS) validates to identify aggressive disease and associates with markers of epithelial-mesenchymal transition and PI3K alterations / E. Wik, J. Trovik, K. Kusonmano [et al.] // Gynecol Oncol. — 2014. — №134 (3). — P. 599-606;

159. Wik, E. High phospho-Stathmin (Serine 38) expression identifies aggressive endometrial cancer and suggests an association with PI3K inhibition / E. Wik, E. Birkeland, J. Trovik [et al.] // Clin Cancer Res. — 2013. — №19 (9). — P. 2331-41;

160. Zhao, S. Landscape of somatic singlenucleotide and copy-number mutations in uterine serous carcinoma / S. Zhao, M. Choi, J.D. Overton [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. — 2013. — №110 (8). — P. 2916-2922;

161. Zighelboim, I. Assessing the prognostic role of ATR mutation in endometrioid endometrial cancer: An NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group study / I. Zighelboim, A. Shamshad, Heather A. Lankes // Gynecol Oncol. — 2015. — №138 (3). — P. 614–619;

162. Zighelboim, I. Microsatellite instability and epigenetic inactivation of MLH1 and outcome of patients with endometrial carcinomas of the endometrioid type / I. Zighelboim, P.J. Goodfellow, F. Gao [et al.] // J Clin Oncol. — 2007. — №25 (15). — P. 2042-2048;