

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ У БОЛЬНЫХ ЭНДОМЕТРИОИДНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМОЙ ЭНДОМЕТРИЯ

AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF MICROSATELLITE INSTABILITY IN PATIENTS WITH CANCER ENDOMETRY

**K. Cham
G. Raskin
V. Vinokurov
S. Gelbutovskaya
A. Lisyanskaya**

Summary. In this work, the frequency of occurrence of unrepaired DNA nucleotide repair (dMMR) in endometrioid adenocarcinoma of the uterus (31%) was determined. For the first time, a feature was found that with common forms of endometrial adenocarcinoma of the endometrium, the average age of patients with loss of MSH2 / MSH6 gene expression is less than the average age of patients with loss of PMS2 / MLH1 expression, regardless of the prevalence of the main pathological process (42.3 ± 4.15 and $60,0 \pm 1.62$ years, respectively, $p < 0.05$). The prognostically more favorable course of the common form of endometrial adenocarcinoma was found to be associated with impaired repair of unpaired DNA nucleotides: the average life expectancy of patients with dMMR was 43.9 ± 3.51 months, without dMMR — 30.0 ± 3.27 months ($p < 0.05$). It is noted that immunohistochemistry is a more sensitive method in comparison with polymerase chain reaction for the selection of patients with endometrial adenocarcinoma of the endometrium, which have a high probability of a response to immunotherapy according to the dMMR / MSI-H criterion (31% according to IHC and 23% according to polymerase chain reaction).

Keywords: uterine cancer, endometrial adenocarcinoma, genes of mismatch repair systems (MRR), microsatellite instability (MSI),.

Чам Карине Гургеновна

Аспирант, врач-онколог, ФГБУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А. М. Гранова
med_83@mail.ru

Раскин Григорий Александрович

Д.м.н., ФГБУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А. М. Гранова

Винокуров Владимир Леонидович

Д.м.н., профессор, ФГБУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А. М. Гранова

Гелбутовская Светлана Михайловна

Аспирант, врач ультразвуковой диагностики, ФГБУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А. М. Гранова

Лисянская Алла Сергеевна

К.м.н., доцент, СПбГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер»

Аннотация. В данной работе определена частота встречаемости нарушения репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (dMMR) при эндометриоидной аденокарциноме эндометрия (31%). Впервые выявлена особенность, что при распространенных формах эндометриоидной аденокарциномы 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 ($42,3 \pm 4,15$ и $60,0 \pm 1,62$ лет, соответственно, $p < 0,05$). Установлено, что прогностически более благоприятное течение распространенной формы эндометриоидной аденокарциномы эндометрия связано с нарушением системы репарации неспаренных нуклеотидов ДНК: средняя продолжительность жизни пациентов с dMMR составила $43,9 \pm 3,51$ месяцев, без dMMR — $30,0 \pm 3,27$ месяцев ($p < 0,05$). 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 (31% по данным ИГХ и 23% по данным ПЦР).

Ключевые слова: рак тела матки, аденокарцинома эндометрия, гены репарации неспаренных нуклеотидов ДНК, микросателлитная нестабильность.

Введение

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 [1,3].

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[2] и вывело рак эндометрия на 3-е место.

Достижения генетики и молекулярной биологии последних десятилетий оказали огромное влияние на понимание природы и прогрессии РЭ. Одним из геномных нарушений, выявляемых при РЭ, являются изменения в повторяющихся последовательностях ДНК, так называемых микросателлитах. 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 г. Минздрав РФ зарегистрировали dMMR/MSI-H в качестве показателя 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[4], другие — об отсутствии связи между наличием MSI и прогнозом течения заболевания[5], третьи — о благоприятном клиническом течении РЭ с MSI[6].

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

Оценить диагностическое и прогностическое значение состояния генов репарации неспаренных нуклеотидов ДНК при эндометриодной аденокарциноме эндометрия.

Материалы и методы

Проанализировано 100 случаев эндометриодной аденокарциномы эндометрия (ЭАЭ) I–IV стадии. Из них — 54 пациентки с диагнозом рак эндометрия I–II стадии (1 группа) и 46 больных раком эндометрия III–IV стадии (2 группа). Диагноз был верифицирован у всех больных на основании данных клинических, инструментальных и морфологических исследований.

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

Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакетов прикладных программ Statistica for Windows (v. 6.0 statsoft). Оценка выживаемости проводилась актуальным и прямым методом (Каплан-Мейер).

Результаты

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

В группе с локализованной формой рака (1 группа) почти у 26% обследованных отмечено нарушение генов репарации. В группе с распространенной формой рака (2 группа исследования) выпадение экспрессии генов репарации встречалось почти в 1,4 раза чаще и составило 37%. Таким образом, распространенная форма рака чаще показывала нарушение MMR (Табл. 1).

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

В этих группах был проведен сравнительный анализ средней продолжительности жизни после постановки диагноза в зависимости от состояния MMR: при локализованной форме рака различий выявлено не было ($83,1 \pm 7,80$ и $93,9 \pm 4,44$ месяцев, соответственно), что, вероятно, связано с общим благоприятным течением

Таблица 1.

Показатель	1 группа, n=54		2 группа, n=46		Всего, n=100	
	n	%	n	%	n	%
CdMMR	14	25,9	17	37,0	31	31,0
без dMMR	40	74,1	29	63,0	69	69,0

Таблица 2. Сопоставление наличия dMMR с показателями средней длительности безрецидивного периода или средней длительности до прогрессирования, а также показателями средней продолжительности жизни

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
средняя продолжительность жизни	83,1	7,80	93,9	4,44	43,9*	3,51	30,0	3,27	58,6	6,27	69,8	4,97

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

ранней формы эндометриоидной аденокарциномы эндометрия. При распространенной же форме ЭАЭ средняя продолжительность жизни была достоверно выше в группе с дефицитом MMR (43,9±3,51 и 30,0±3,27 месяцев, соответственно). Это особенно интересно еще и потому, что в целом, различия в продолжительности жизни при ЭАЭ в зависимости от статуса MMR по данным литературы нет, но эти исследования не разбивали пациентов на подгруппы с распространенной и локализованной формой (Табл. 2)

Полученные различия в продолжительности жизни 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[7]. Уже доказана эффективность иммунотерапии при dMMR опухолях в независимости от локализации рака, поэтому, учитывая все вышесказанное анти-PD1 терапия должна заменить химиотерапию у dMMR рака эндометрия.

В настоящем исследовании у 35 женщин с dMMR по данным ИГХ проведено молекулярно-генетическое исследование (ПЦП) 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% выявленMSS.

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 распространенными формами ЭАЭ, однако уровня статистически значимых различий указанные изменения не достигли (p>0,05).

В настоящем исследовании при анализе данных MSI и MMR (Рис. 1) у пациенток с ЭАЭ установлена синхронное выпадение PMS2/MLH1, а также достоверно более высокая частота встречаемости выпадения PMS2/MLH1, которая составила 66% (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

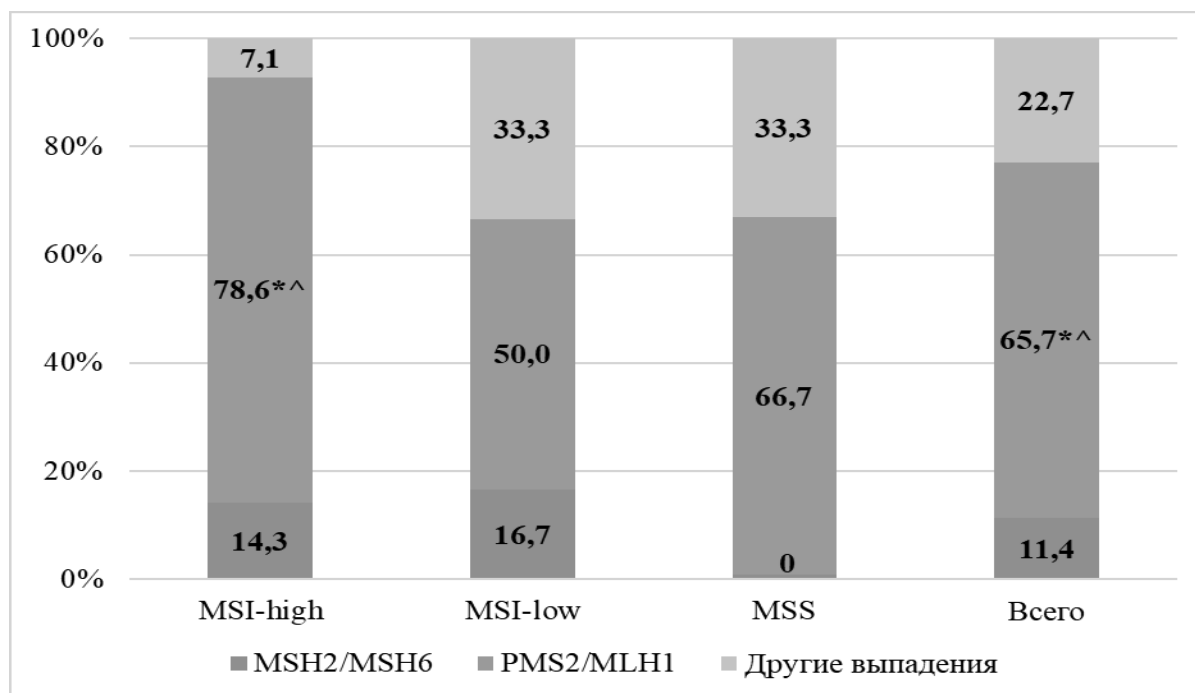


Рис. 1. Сопоставление исследований MSI и MMRгенов у пациенток с ЭАЭ,%
 Примечание: * — достоверность различий между MSH2/MSH6 и PMS2/MLH1 ($p < 0,05$)
 # — достоверность различий между MSH2/MSH6 и Другие выпадения ($p < 0,05$)
 ^ — достоверность различий между PMS2/MLH1 и Другие выпадения ($p < 0,05$)

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

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 данных ИГХ и ПЦР у женщин обеих групп исследования и свидетельствующие о том, что у 7 (20,0%) женщин с диагностированным выпадением MMRгенов 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.

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

При сопоставлении наличия повреждения MMR с возрастом пациенток, выявлено, что у пациенток с распространенными формами ЭАЭ средний возраст с MSI составил $55,2 \pm 2,23$ лет, в то время как у MSS-пациенток — $65,0 \pm 4,38$ 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 $42,3 \pm 4,15$ года, что существенно меньше, чем у пациенток с выпадением экспрессии PMS2/MLH1 ($60,0 \pm 1,62$ лет, $p < 0,05$). 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 (Табл. 3).

Характеристика наличия dMMR в зависимости от степени дифференцировки опухоли у пациенток групп исследования показала, что у обследованных больных с dMMR45% женщин имели умеренную дифференци-

Таблица 3. 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)

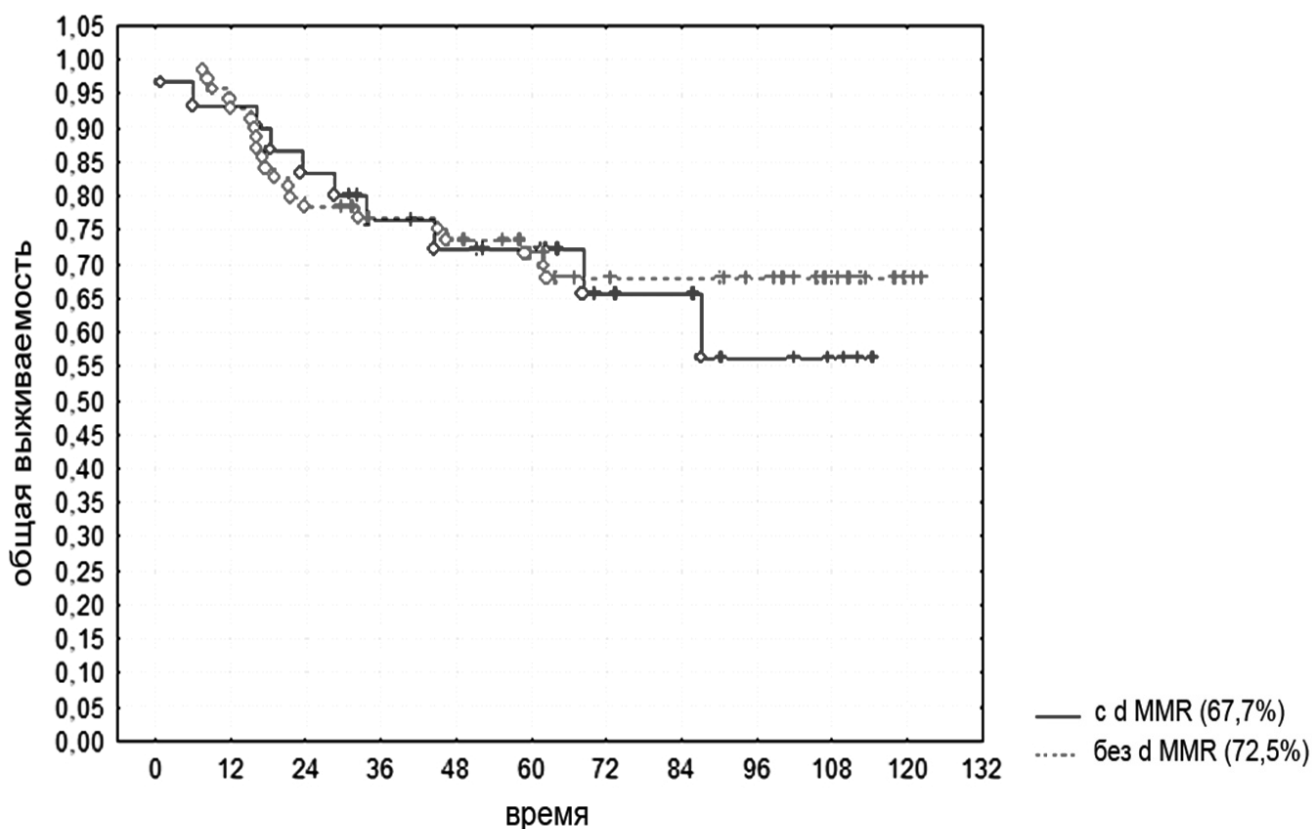


Рис. 2 Общая выживаемость (Каплан-Мейера) у пациенток групп исследования в зависимости от наличия dMMR, n=100.

ровку 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.

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 (Рис. 2). 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, а без dMMR 69,5±5,01 месяцев.

В группе женщин с локализованными формами ЭАЭ средние значения длительности безрецидивного периода или времени до прогрессирования не имели принципиальных различий. У женщин с распространен-

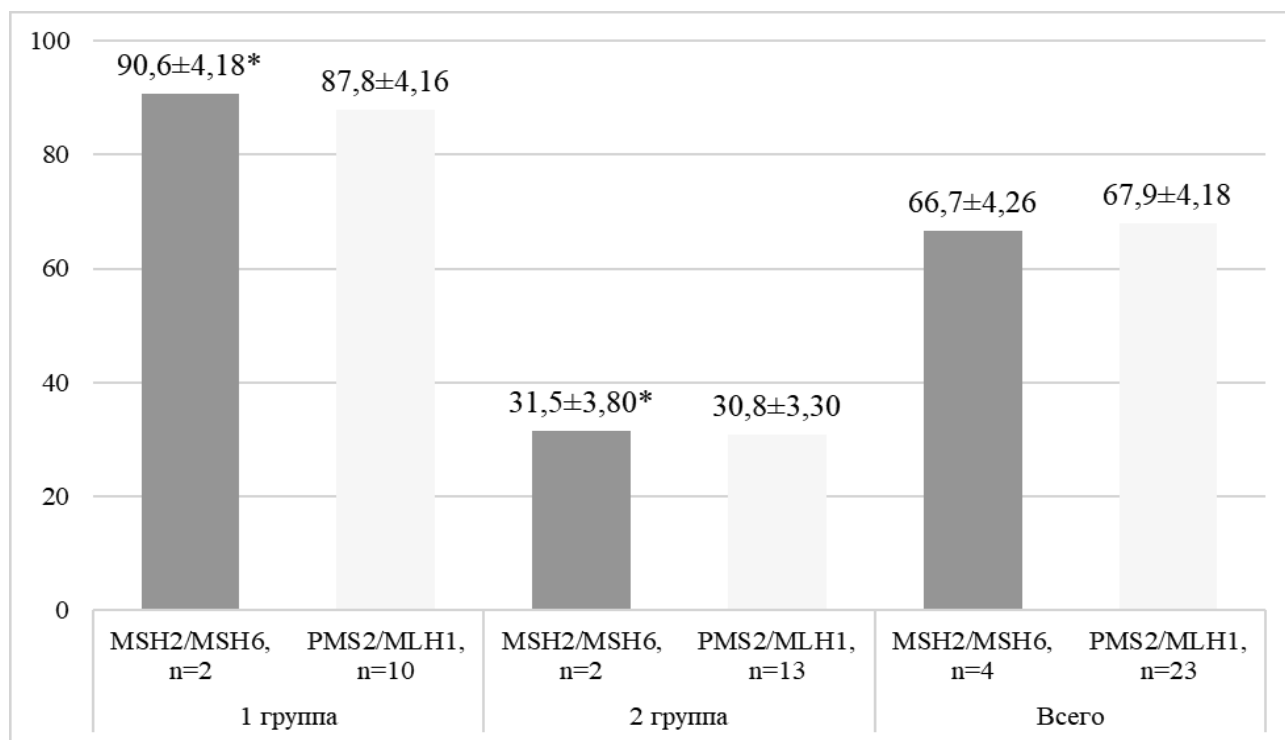


Рис. 3 Средняя длительность жизни до наступления рецидива / прогрессирования (месяцы), $M \pm m$
Примечание: * — статистически значимые различия между 1 и 2 группой исследования

ными формами средние значения длительности безрецидивного периода или времени до прогрессирования в анализируемых подгруппах составили, соответственно по группам — $37,1 \pm 5,54$ и $19,4 \pm 1,36$ месяцев. Средняя продолжительность жизни у женщин с dMMR составили $43,9 \pm 3,51$ месяцев, у женщин без dMMR — $30,0 \pm 3,27$ месяцев, различия по указанным показателям статистически значимые, $p < 0,05$.

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 $66,7 \pm 4,26$ месяцев, а у больных с выпадением PMS2/MLH1 $67,9 \pm 4,18$ месяцев ($p > 0,05$).

Сравнительный внутригрупповой 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 ($p < 0,05$).

Результаты анализа по сопоставлению вида dMMR с показателями средней длительности безрецидивного периода или средней длительности до прогрессирования иллюстрированы на рис. 3.

Обращает на себя внимание достаточно высокая частота встречаемости dMMR в распространенной 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.

ВЫВОДЫ

Эндометриоидный рак эндометрия характеризуется высокой частотой нарушения репарации неспаренных нуклеотидов ДНК (dMMR) (31% случаев). Установлено, что при распространенных формах эндометриоидной аденокарциномы эндометрия средний возраст MSS-пациенток достоверно выше, чем у пациенток с MSI ($65,0 \pm 4,38$ и $55,2 \pm 2,23$ соответственно, где $p < 0,05$); 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 ($42,3 \pm 4,15$ и $60,0 \pm 1,62$ лет, соответственно, $p < 0,05$). Наличие повреждения в системе репарации не-

спаренных нуклеотидов ДНК не влияет на общую 5-летнюю выживаемость (с dMMR — 67,7%, без dMMR — 72,5% месяцев), $p > 0,05$.

Прогностически более благоприятное течение распространенной формы эндометриоидной аденокарциномы эндометрия связано с нарушением системы репарации неспаренных нуклеотидов ДНК: средняя

продолжительность жизни пациентов с dMMR составила $43,9 \pm 3,51$ месяцев, без dMMR — $30,0 \pm 3,27$ месяцев ($p < 0,05$). 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 (31% по данным ИГХ и 23% по данным ПЦР).

ЛИТЕРАТУРА

1. Титова В. А., Столярова И. В., Крейнина Ю. М. Современные технологии комплексного лечения рака эндометрия. М—СПб Фолиант 2012 г. 168 с.
2. 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.;
3. 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 — EORTC40993-SAKK 60—00 trial. J Clin Oncol (meeting abstract) 2009;27:4002.
4. 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;
5. Zigelboim, I. Assessing the prognostic role of ATR mutation in endometrioid endometrial cancer: An NRG Oncology/Gynecologic Oncology Group study / I. Zigelboim, A. Shamshad, Heather A. Lankes // Gynecol Oncol. — 2015. — № 138 (3). — P. 614—619;
6. Bilbao, C. Microsatellite instability predicts clinical outcome in radiation treated endometrioid endometrial cancer patients / C. Bilbao, P. C. Lara, R. Ramirez // Int J Radiat Oncol Biol Phys. — 2010. — № 76 (1). — P. 9—13;
7. Margherita Ratti et al. Cell Mol Life Sci — 2018. — Nov 1- № 75(22) — P. 4151—4162.

© Чам Карине Гургеновна (med_83@mail.ru), Раскин Григорий Александрович, Винокуров Владимир Леонидович,

Гелбутовская Светлана Михайловна, Лисянская Алла Сергеевна.

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»



Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова