

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ РАКУ**

САМОХВАЛОВА ОЛЕНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 618.16 – 006.6 – 08 – 037

**КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕЦИДИВІВ РАКУ ВУЛЬВИ
ТА МОЛЕКУЛЯРНО-БІОХІМІЧНІ ФАКТОРИ ПРОГНОЗУ**

14.01.07 – онкологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Київ – 2022

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Національному інституті раку МОЗ України

Науковий керівник

доктор медичних наук
Копчак Костянтин Володимирович,
Національний інститут раку МОЗ України,
провідний науковий співробітник
науково-дослідного відділення
пухлин черевної порожнини

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор
Ковальов Олексій Олексійович,
Державний заклад «Запорізька медична
академія післядипломної освіти
МОЗ України»,
завідувач кафедри онкології

доктор медичних наук, доцент
Харченко Катерина Володимирівна,
КНП «Київський міський клінічний
онкологічний центр»,
завідуюча відділенням малоінвазивної хірургії

Захист відбудеться «21» грудня 2022 року о 13 годині
на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.560.01
в Національному інституті раку (03022, м. Київ, вул. Ломоносова, 33/43).

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці
Національного інституту раку (03022, м. Київ, вул. Ломоносова, 33/43).

Автореферат розісланий «18» листопада 2022 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат медичних наук

Г.В. Лаврик

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Рак зовнішніх статевих органів складає майже 8,0 % загального показника захворюваності злоякісними пухлинами жіночих геніталій і посідає четверте місце після раку шийки, тіла матки та яєчників. Захворюваність на рак вульви (РВ) у жінок складає 2,5–5,0 % усіх онкогінекологічних захворювань, поступаючись за частотою лише раку шийки, тіла матки та яєчників. Наразі відзначається підвищення рівня захворюваності на РВ (Федоренко З.П. та співавт., 2021; Parkin D.M., Whelan S.L., Ferlay J. et al., 2002).

Незважаючи на візуальну доступність діагностики РВ, малосимптомний перебіг хвороби на ранній стадії призводить до пізнього звертання за спеціальним лікуванням, тому понад 60,0 % пацієнтів звертаються з III–IV стадією пухлинного процесу, коли ефективність лікування значно знижується. Внаслідок особливостей анатомо-топографічної будови зовнішніх статевих органів у жінок, за рахунок розвиненої сітки лімфатичних судин, рак цієї локалізації є захворюванням дуже агресивним, оскільки має виражену схильність до швидкого прогресування та раннього метастазування (Турчак А.В., 2009).

В Україні стандартизований показник захворюваності на РВ коливається в межах 1,3–1,4 випадка на 100 тис. Інвазивний плоскоклітинний РВ складає 90,0 % усіх злоякісних пухлин вульви та 1,0–2,0 % – злоякісних епітеліальних пухлин. Слід зазначити, що РВ – хвороба жінок літнього та старечого віку: 80,0 % інвазивного РВ діагностують у жінок віком понад 55 років, середній вік хворих 65–68 років, а пік захворюваності припадає на вік 75 років (Petrone G., Altomare V., Zagami M. et al., 2009). Проте, останнім часом спостерігається приріст захворюваності на РВ серед молодих жінок: розповсюдженість патології в репродуктивному віці збільшилась у 2 рази (Pleunis N., Schuurman M.S., Van Rossum M.M. et al., 2016). Збільшення показників захворюваності преінвазивним РВ у молодому віці пов'язаний з раннім початком статевого життя, значною кількістю сексуальних партнерів і низьким соціально-культурним рівнем, наявністю в анамнезі паління та інфекції, спричиненої вірусом папіломи людини (ВПЛ). Натомість, у жінок старшого віку захворювання переважно діагностують на пізніх стадіях, а гістологічно частіше зустрічаються лускоподібні та кератиноїдні інвазивні пухлини (Федоренко З.П. та співавт., 2021; Go-Eun B., Yoon G., Yong-Jung S. et al., 2016; Futagami M., Yokoyama Y., Iino K. et al., 2015).

У 70,0–90,0 % у пацієнток морфологічно верифікується плоскоклітинний рак – злоякісне новоутворення, що виникає з покривного плоского епітелію зовнішніх статевих органів. На інвазивний плоскоклітинний РВ припадає 90,0 % усіх злоякісних пухлин цієї локалізації та 1,0–2,0 % злоякісних епітеліальних пухлин у жінок. Іншими злоякісними пухлинами вульви є меланома, аденокарцинома, саркома та рак бартолінової залози (Коржевская Е.В., Козаченко В.П., Паяниди Ю.Г., 2010).

За даними різних авторів, рецидиви РВ найчастіше виникають у проєкції первинної пухлини – в 48,0–75,7 % випадків. У ділянці регіонарних лімфатичних вузлів рецидив виявляється в 14,0–40,0 % хворих. Частота локальних рецидивів пухлини найвірогідніше обумовлена віддаленістю вільного краю резекції та пухлини (Турчак А.В., 2009; Gien L.T., Sutradhar R., Thomas G. et al., 2015).

Водночас, окремі дослідники відзначають у 8,0 % випадків наявність віддалених, а в 14,0 % – множинних метастазів. Загальна 5-річна виживаність варіює від 21,7 % до 54,0 %. Виживаність корелює з рівнем інвазії по Кларку: при інвазії II ступеня – 100,0 %, при III і IV ступеня – 40,0, при V ступеня – 20,0 %. При цьому, 50,0–80,0 % хворих не доживають до 2 років з моменту встановлення діагнозу (Alligood-Percoco N.R., Kessler M.S., Willis G., 2015; Papaioannou N., Zervoudis S., Grammatikakis I. et al., 2010; Neto A.G., Deavers M.T., Silva E.G. et al., 2003).

Незважаючи на візуальну діагностичну доступність, РВ є однією з найбільш важковиліковних злоякісних пухлин органів репродуктивної системи жінки. З одного боку, це пов'язано з особливостями кровопостачання, інервації і лімфатичного відтоку, а також топографічною близькістю суміжних органів; з іншого – з високою психосексуальною і фізіологічною значущістю зовнішніх статевих органів жінки для її нормального життя.

Щороку фіксується до 400 нових випадків РВ. Фактори прогнозу виникнення ранніх рецидивів РВ наразі вивчені недостатньо. За результатами експертного аналізу міжнародної групи ESGO (2016), не виявлено жодного дослідження щодо хіміо-променевого лікування та використання хіміотерапії, із залученням принаймні 50 пацієнток. Прогнозування виникнення ранніх рецидивів РВ з урахуванням біологічних особливостей пухлин також не вивчено. Лікування хворих з рецидивами РВ є актуальною і складною проблемою, що потребує розробки індивідуальної тактики з урахуванням біологічних особливостей первинної пухлини.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є самостійною науковою роботою, виконана за планом науково-дослідної роботи Національного інституту раку (номер державної реєстрації 0122U201384).

Мета дослідження: вивчити особливості клінічного перебігу раку вульви та значення рівнів експресії маркерів COX-2 та VEGF в клітинах пухлин для прогнозування рецидивів.

Завдання дослідження

1. Визначити епідеміологічні особливості раку вульви.
2. Визначити особливості розвитку рецидивів раку вульви та оцінити ефективність різних методів лікування хворих (ретроспективно).
3. Визначити фактори, що впливають на виживаність пацієнток з раком вульви.
4. Оцінити значення вивчених молекулярних маркерів як факторів прогнозу розвитку рецидивів раку вульви.

Об'єкт дослідження: рак вульви I–III стадій.

Предмет дослідження: експресія молекулярних маркерів COX-2 та VEGF в тканині пухлин вульви, безрецидивна та загальна виживаність хворих.

Методи дослідження: клінічні, морфологічні, імуногістохімічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше досліджено рівні експресії молекулярних маркерів VEGF та COX-2 для прогнозування виникнення рецидивів у пацієнток з РВ та не встановлено різниці у загальній та безрецидивній виживаності хворих з позитивною та негативною експресією маркера COX-2.

Вперше досліджено показники безрецидивної виживаності пацієнток з експресією маркера VEGF та проаналізовано залежність загальної та безрецидивної виживаності хворих з негативною та позитивною експресією маркера.

Встановлено, що маркери COX-2 та VEGF не можуть бути рекомендовані для використання як прогностичні у хворих на РВ.

Практичне значення отриманих результатів. Визначення клінічного перебігу РВ, ефективності різних методів лікування, особливостей розвитку рецидивів, експресії рівнів молекулярних маркерів COX-2 та VEGF не дає можливості передбачати перебіг захворювання та прогнозувати виникнення ранніх рецидивів РВ.

Отримані дані не продемонстрували істотних розбіжностей в рівнях експресії маркерів COX-2 та VEGF у пацієнток з рецидивом та без рецидиву РВ, тому не можуть бути використані як фактори прогнозу виникнення рецидивів РВ в клінічній практиці лікаря.

Основним фактором прогнозування виникнення рецидивів РВ є: ступінь диференціювання, розмір пухлини та ураження лімфатичних вузлів.

Особистий внесок здобувача. Дисертанткою разом з науковим керівником визначено мету дослідження, поставлено завдання, розроблено методологію дослідження, проведено аналіз та обґрунтування одержаних результатів. Самостійно написані всі розділи дисертації, оформлено ілюстративний матеріал, висновки та практичні рекомендації.

Автор брала участь в обстеженні та лікуванні хворих, аналізувала результати лікування хворих з рецидивами раку вульви. Вивчила та проаналізувала результати лікування у хворих з рецидивами раку вульви.

В роботах, виконаних у співавторстві, реалізовані наукові ідеї дисертантки, не використані ідеї і розробки співавторів. Дисертанткою самостійно підготовлено статті до публікації в наукових фахових виданнях за матеріалами дисертації.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідались на: XIII з'їзді онкологів та радіологів України (Київ, 2016); International scientific conference «Integrated clinical and pathogenetic approaches in diagnosis and therapy of cancer» (Kyiv, 2016); науково-практичних конференціях для молодих вчених «Перспективи діагностики та лікування

онкологічної патології» (Київ, 2016), «Сучасні підходи до діагностики та лікування злоякісних захворювань» (Київ, 2019).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 8 наукових праць: 4 статті (1 – у виданні, що індексуються в наукометричній базі Scopus); 4 – тези з'їздів та науково-практичних конференцій.

Обсяг і структура дисертації. Дисертацію викладено українською мовою на 131 сторінці машинопису. Робота складається з анотацій, вступу, матеріалів та методів, огляду літератури, результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, який містить 190 найменувань (47 кирилицею, 143 латиницею), додатків; ілюстрована 16 таблицями та 28 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проводили на базі відділення онкогінекології Національного інституту раку. Проведено ретроспективне дослідження результатів лікування 557 пацієток з раком вульви, які впродовж 1993–2018 рр. перебували на стаціонарному лікуванні в Національному інституті раку, з метою оцінки прогностичних факторів виживаності та безрецидивної виживаності (рис. 1).

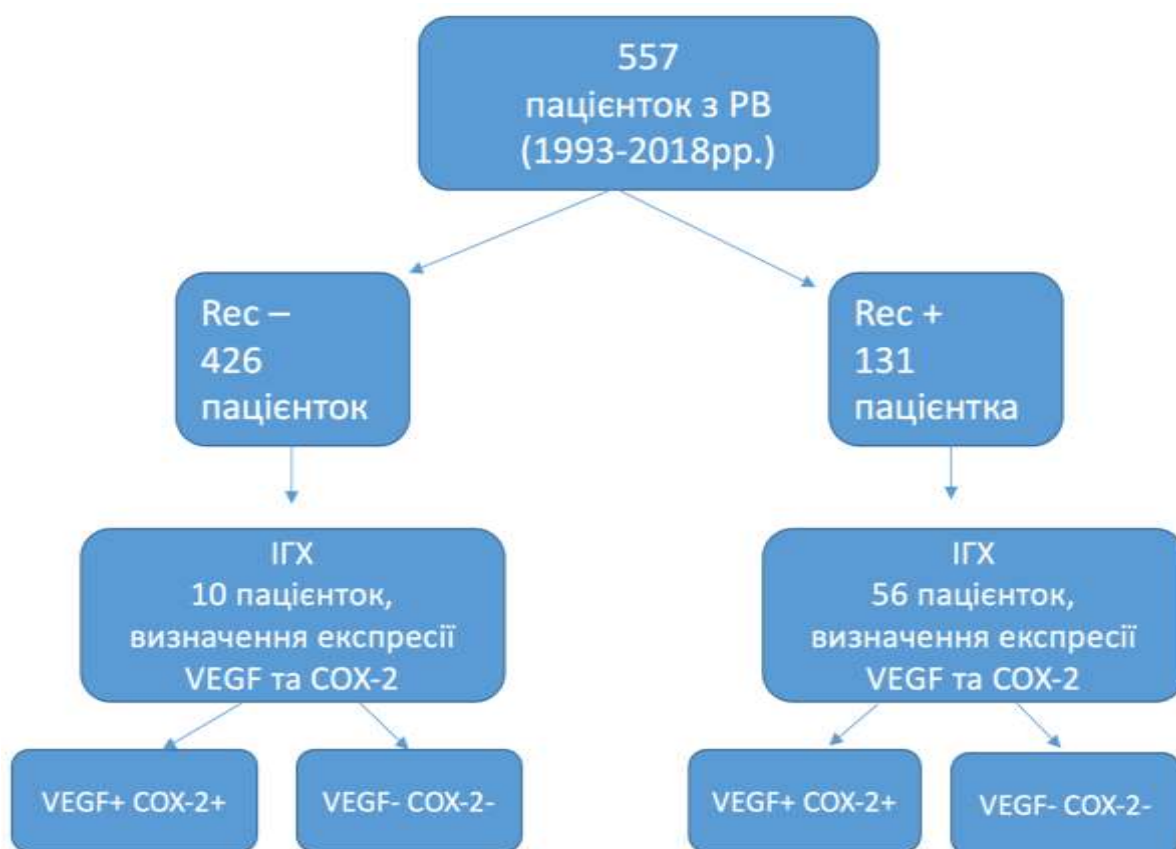


Рис. 1. Дизайн дослідження

У всіх пацієнток проаналізовано фактори, що є можливими причинами рецидиву РВ. Досліджено клінічні особливості хворих на РВ, фактори віддаленої летальності та ефективність різних методів лікування пацієнток, які перебували на лікуванні в Національному інституті раку впродовж 2000–2018 рр. У 131 (24 %) пацієнтки, які отримали лікування, виник рецидив захворювання. З цієї групи було обрано 56 пацієнток для проведення імуногістохімічного (ІГХ) дослідження рівня експресії маркерів VEGF та COX-2 в тканині пухлини вульви.

У 426 (76,0 %) пацієнток рецидив не був зафіксований. З цієї групи було обрано 10 пацієнток для проведення аналогічного дослідження рівня експресії маркерів VEGF та COX-2, які перебували на лікуванні упродовж 2000–2018 рр. Критерії включення та виключення аналогічні.

Для визначення стадії захворювання використовували системи TNM (UICC, 7 вид., 2010) та FIGO, TNM – клінічна класифікація: Т – первинна пухлина, N – регіонарні лімфовузли, М – віддалені метастази.

Для проведення імуногістохімічного аналізу отриманий операційний матеріал фіксували у 10 % розчині забуференого формаліну. Після стандартної процедури автоматизованої проводки, виготовляли гістологічні зрізи товщиною 4 мкм. Зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином за стандартною методикою. Додатково було проведено імуногістохімічне дослідження з використанням моноклональних антитіл (МАТ) до VEGF (клон VG1) та COX-2 (клон 4H12). Оцінку інтенсивності експресії VEGF та COX-2 оцінювали напівкількісним методом (слабка – «1+», помірна – «2+», виразна імунопозитивна реакція – «3+»). Окрім цього визначали локалізацію експресії (пухлинні клітини, клітини дерми, клітини інфільтратів, перифокальна зона).

Для статистичного аналізу отриманих результатів використовували пакет програм обробки даних загального призначення Statisticafor Windows версії 7.0 (StatSoftinc., США) та SPSS 17.0. Достовірність розбіжності визначали за допомогою t-критерію Стюдента та F-критерію Фішера для параметричних даних. При непараметричному розподілі використовували для множинного порівняння – Н-критерій Краскела-Уоліса, для парного – ранговий U-критерій Манна-Уїтні (у випадку незалежних вибірок) та Т-критерій Вілкоксона (у випадку залежних груп). Дискретні величини представлені у вигляді частот (відсоток спостережень до загальної кількості обстежених). Для порівняння дискретних величин у незалежних групах використовували критерій χ^2 Пірсона. Оцінку ризику настання несприятливої події проводили з урахуванням абсолютного (AR) та відносного (RR) ризиків, а також відношення шансів (OR), з розрахунком довірчих інтервалів та критерію достовірності щодо RR та OR.

Аналіз летальності та безрецидивної виживаності (облік кінцевих та сурогатних точок) проводили за допомогою аналізу Каплана-Мейєра з розрахунком лог-ранк критерію і показника відносного ризику між кривими дожиття – HR (*hazard ratio*), оцінкою показників – медіан часу виживання, експоненційних – медіана тривалості випадку і частот ускладнень. При $p < 0,05$ розбіжності вважали статистично вірогідними.

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Одним із завдань дисертаційного дослідження було вивчення клінічних особливостей, факторів віддаленої летальності у хворих на рак вульви, а також ефективності різних методів лікування.

Для досягнення даної мети було проведено ретроспективне дослідження шляхом вивчення історій хвороб пацієнок та виписних епікризів. Віддалений період з аналізом наслідків клінічного перебігу простежено у пацієнок, які лікувалися на базі відділення онкогінекології Національного інституту раку з 1993 по 2018 рік. В аналіз було включено 557 історій хвороб пацієнок.

Перше ретроспективне дослідження проводили шляхом аналізу результатів лікування 557 історій хвороби пацієнок з РВ, які лікувались упродовж 1993–2018 рр. У цій групі пацієнок було розподілено згідно з фактом встановлення рецидиву захворювання або його відсутності.

Друге ретроспективне дослідження проведено у двох групах із залученням 66 пацієнок. У групі пацієнок без рецидиву захворювання (426 осіб), виконано ІГХ дослідження рівнів експресії маркерів васкулоендотеліального фактора росту (VEGF) та циклооксигенази-2 – (COX-2).

У групі пацієнок з встановленим рецидивом захворювання (131 особа) було аналогічно проведено імуногістохімічне дослідження рівнів експресії маркерів васкулоендотеліального фактора росту (VEGF) та циклооксигенази-2 – (COX-2).

У всіх 66 пацієнок з двох груп проводилось морфологічне дослідження з аналізом гістологічного типу та ступеня диференціювання пухлини. При лабораторному дослідженні напівкількісним методом проаналізовано рівень експресії маркерів васкулоендотеліального фактора росту (VEGF) та циклооксигенази-2 – (COX-2). Критеріями включення пацієнок у групи були вік (18–80 років), стадія захворювання (I–III ст.), гістологічна форма пухлини (плоскоклітинний рак).

Встановлено, що сучасними віковими особливостями раку зовнішніх статевих органів є переважний розвиток даної патології у жінок віком понад 60 років (41,9 %), з частим виявленням серед жінок середнього віку – 40–60 років (24,9 %) та молодого віку 20–40 років (10,8 %).

За ступенем диференціювання 41,1 % пухлин зовнішніх статевих органів є високодиференційованими, 39,5 % – помірно диференційованими, 19,4 % – низькодиференційованими. Гістологічно при первинному зверненні переважав плоскоклітинний рак (83,3 %), у 8,2 % випадків – меланома, у 6,1 % випадків – аденокарцинома, 2,0 % – саркома.

Медіана виживаності склала 194 та 80 місяців для пацієнок з помірно та низькодиференційованими пухлинами відповідно та не була досягнута для пацієнок з високодиференційованими пухлинами (рис. 2).

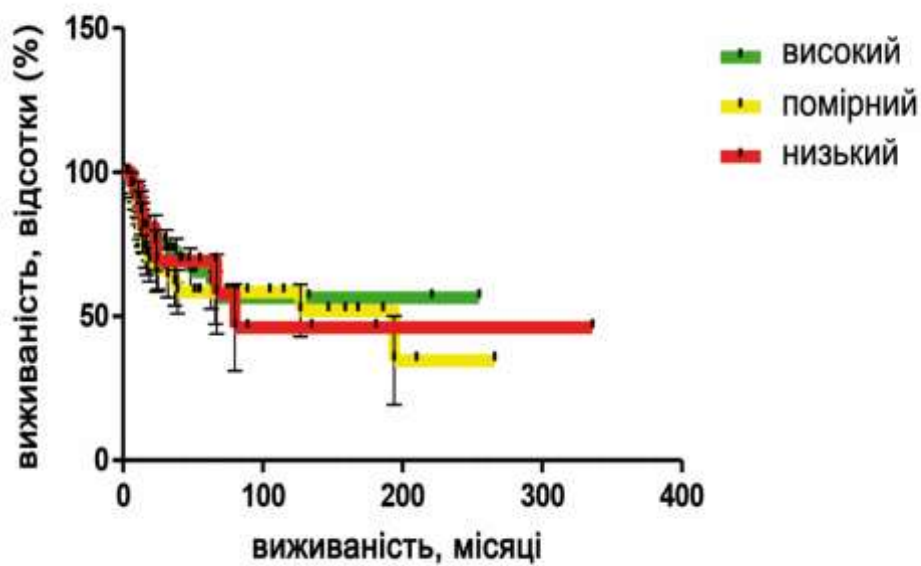


Рис. 2. Медіана виживаності залежно від ступеня диференціювання пухлини

Водночас ми не виявили статистично достовірної розбіжності у виживаності пацієток з різним ступенем диференціювання пухлини ($\chi^2 = 0,2693$; $p=0,8740$).

Проведено аналіз безрецидивної виживаності у пацієток з РВ залежно від ступеня диференціювання пухлини, що зображено на рисунку 3.

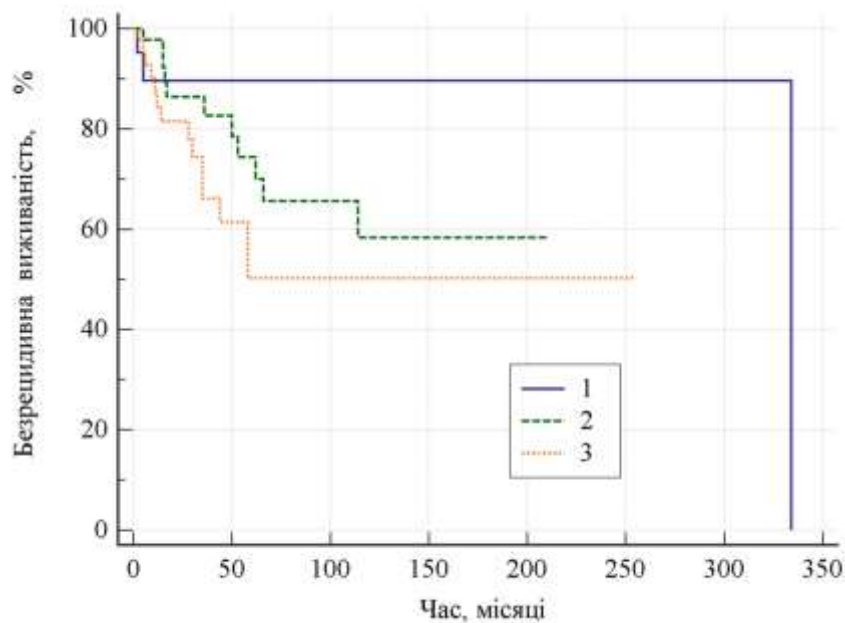


Рис. 3. Безрецидивна виживаність залежно від ступеня диференціювання пухлини: 1 – висока, 2 – помірна, 3 – низька

За оцінки локального статусу, найвищу смертність доведено при тотальному ураженні (66,7 %), ураженні кількох ділянок (80,9 %), великих (45,0 %) та малих (91,0 %) статевих губ. Ми розподілили локалізації ураження на центральні, латеральні та тотальні.

Нами було досліджено загальну виживаність пацієток з РВ, використовуючи аналіз Мантела-Кокса з розрахунком лог-ранк критерію залежно від розташування пухлини (рис. 4). При латеральному розташуванні пухлини медіана загальної виживаності склала 145 міс., при центральному – не досягнуто, при тотальному ураженні пухлиною – 192 міс. Різниця була недостовірною ($\chi^2 - 1,160$; $p=0,5598$).

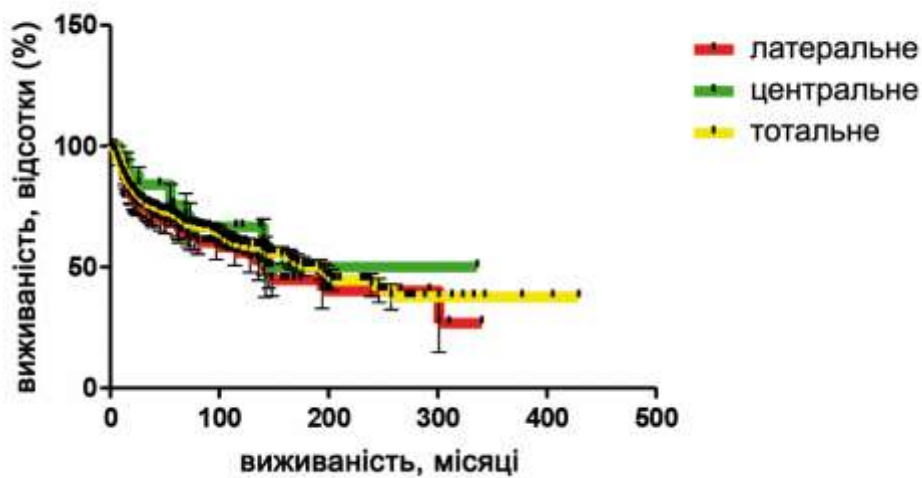


Рис. 4. Загальна виживаність залежно від розташування пухлини

При проведенні аналізу безрецидивної виживаності у пацієток з РВ залежно від розташування первинної пухлини були отримані наступні дані, наведені на рисунку 5.

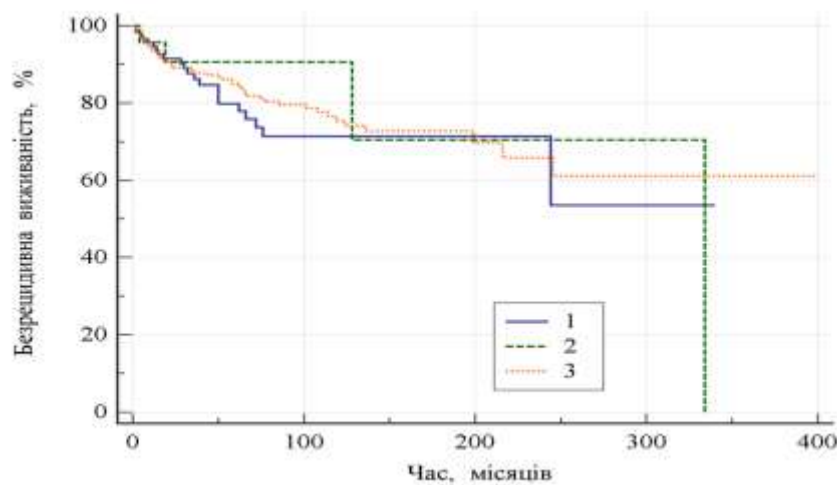


Рис. 5. Безрецидивна виживаність пацієток з РВ залежно від розташування первинної пухлини: 1 – Л (латеральне), 2 – С (серединне), 3 – Т (тотальне)

Під час проведення аналізу, зв'язку ризику виникнення рецидиву із первинною локалізацією пухлини не виявлено ($p=0,734$ за лог-ранговим критерієм). При цьому медіана безрецидивної виживаності була досягнута лише для групи з серединною локалізацією пухлини – 334 міс. (95 % ВІ 128–334 міс.).

Не встановлено вірогідної різниці виживаності за методом Каплана-Мейера між методами комбінованого (19,0 % – хірургічний з хіміотерапією та 26,0 % – хірургічний і променевий) та комплексного лікування (12,0 %), з кращими показниками виживаності при радикальному хірургічному лікуванні (54,0 %). При цьому, групи статистично не відрізнялись за стадією захворювання на момент діагностики процесу.

Отже, за нашими даними проведення неоад'ювантного курсу лікування як хіміотерапевтичного, так і променевого, не тільки не покращувало віддалені результати, але і відтермінувало проведення радикального хірургічного втручання, за рахунок чого були отримані гірші результати, що відображено на рисунку 6.

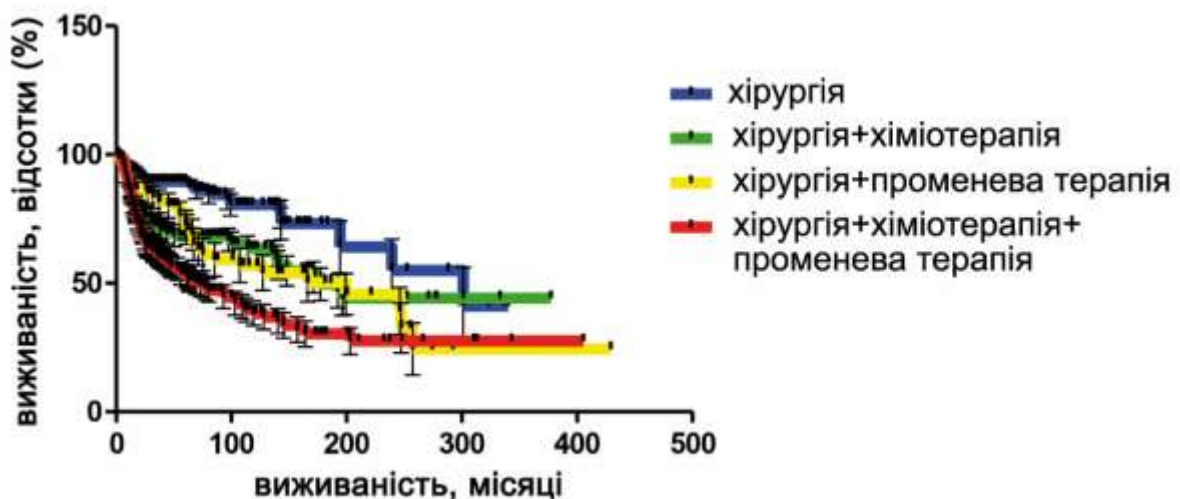


Рис. 6. Загальна виживаність залежно від методу неоад'ювантного курсу лікування

При проведенні аналізу ризику виникнення рецидиву із стадією захворювання такого зв'язку не виявлено ($p=0,268$ за лог-ранговим критерієм). При цьому для груп із I та III стадією РВ медіана безрецидивної виживаності не була досягнута, для групи із II стадією – медіана виживаності склала 244 міс. (95 % ВІ 216–244 міс.).

Також було досліджено показники загальної виживаності пацієток з РВ залежно від наявності чи відсутності ураження лімфатичних вузлів під час первинного звернення. При відсутності пухлинного ураження лімфатичних вузлів медіана виживаності склала 148 міс., при ураженні лімфатичних вузлів – 32 міс. ($\chi^2 - 18,75$; $p < 0,0001$).

Доведено, що основною проблемою в лікуванні РВ є пізні звернення пацієнтів, яке складає 69,6 % усіх випадків первинного звернення, 24,6 % жінок вперше звертаються до спеціалізованого лікувального закладу з ознаками метастазування в регіонарні лімфатичні вузли, 9,2 % – з ознаками віддаленого метастазування.

Встановлено, що рівень 3-річної безрецидивної виживаності при пухлинах зовнішніх статевих органів досягає 64,9 %, ранні рецидиви спостерігаються у 35,1 % жінок. Частота рецидивів коливається від 16,7 % при стадії I (OR – 1,0) до 50,0 і 58,3 % при стадіях III (OR – 3,15) та IV (OR – 4,89); 3-річна безрецидивна виживаність складає 100,0 % при місцевому раку (Tis), 73,2 % – при T1 (OR – 1,0), 64,3 % – при T2 (OR – 1,52); 42,9 % – при T3 (OR – 3,64); 50,0 % – при T4 (OR – 2,73). Критерій Tх є несприятливим, з 3-річною безрецидивною виживаністю 0,0 % (OR – 5,0). Частота 3-річних рецидивів при відсутності метастазів у лімфатичні вузли складає 30,4 % (N0), при односторонніх метастазах (N1) – 55,6 %, при двосторонніх – 66,7 % (N2). Вища частота рецидивів зареєстрована у хворих з M1 стадією (75,0 %), порівняно з M0 (32,2 %).

Радикальні хірургічні втручання були ефективнішими, ніж застосування хіміотерапії (χ^2 – 54,965; $p < 0,001$); частота 3-річних рецидивів коливалась від 15,2 % (радикальні хірургічні втручання), до 35,0 та 41,9 % – при поєднанні хірургічного методу з хіміотерапією або хірургічного та променевого методів.

Для виявлення багатофакторних залежностей ризику виникнення рецидиву використано метод побудови багатофакторних моделей Кокса. Для відбору значимих ознак із шести проаналізованих факторів: стадія захворювання, індекс T (TNM класифікація), індекс N (TNM класифікація), ступінь диференціювання пухлини, локалізація первинної пухлини, вік пацієнток на момент встановлення діагнозу – використано метод покрокового включення або виключення ознак. Було виділено 2 значимі ознаки: індекс T та ступінь диференціювання пухлини. Модель Кокса, побудована на виділених ознаках, адекватна (χ^2 -квадрат=9,3 при 2 ступенях свободи, $p=0,009$).

У таблиці 1 наведено коефіцієнти моделі.

Таблиця 1

**Коефіцієнти двофакторної моделі Кокса
для прогнозування ризику виникнення рецидиву**

Факторна ознака	Коефіцієнт моделі, $b \pm m$	Рівень значимості відмінності коефіцієнта від 0, p	Показник відносного ризику, HR (95 % BI)
Індекс T пухлини	$0,73 \pm 0,32$	0,024	2,1 (1,1 – 3,9)
Ступінь диференціювання пухлини	$0,70 \pm 0,32$	0,027	2,0 (1,1–3,7)

Таким чином, виявлено підвищення ($p=0,024$) ризику виникнення рецидиву при зростанні індексу Т пухлини, $HR=2,1$ (95 % ВІ 1,1–3,9) на кожну градацію індексу Т (при стандартизації за ступенем диференціювання пухлини). Виявлено також підвищення ($p=0,027$) ризику виникнення рецидиву при зростанні ступеня диференціювання пухлини, $HR=2,1$ (95 % ВІ 1,1 – 3,9) на кожну градацію ступеня диференціювання пухлини (при стандартизації за індексом Т пухлини).

Дослідження рівнів експресії маркерів VEGF і COX-2 у пацієнток з рецидивом захворювання. Для проведення ретроспективного дослідження експресії маркерів VEGF і COX-2 із групи пацієнток, у яких виник рецидив, було відібрано 56 пацієнток. Лікування пацієнтки отримували з 2000 по 2018 р. Дослідження було проведено на післяопераційному гістологічному матеріалі тканини пухлин вульви.

Позитивна експресія маркера VEGF була у 53 (95,0 %) пацієнток, негативна – у 3 (5,0 %) пацієнток. Виживаність пацієнток з позитивною експресією VEGF склала 47 міс., а з негативною – 44 міс. При дослідженні позитивної експресії VEGF залежно від розташування первинної пухлини, отримані наступні дані: латеральна локалізація – у 14 (26,0 %) пацієнток, центральна локалізація – у 6 (11,0 %), тотальне ураження – у 33 (62,0 %).

Аналогічно було проведено дослідження експресії для маркера COX-2 залежно від різних показників.

Позитивна експресія маркера COX-2 була у 51 (91,0 %) пацієнтки, негативна – у 5 (9,0 %). Виживаність пацієнток з позитивною експресією COX-2 склала 45 міс., а з негативною – 62 міс. При дослідженні позитивної експресії COX-2 залежно від розташування первинної пухлини отримані наступні дані: латеральна локалізація – у 13 (25,0 %) пацієнток, центральна локалізація – у 7 (14,0 %) пацієнток, тотальне ураження – у 31 (61,0 %) пацієнтки.

Для дослідження експресії маркерів VEGF та COX-2 у пацієнток, які рецидиву не мали, було відібрано 10 пацієнток. Лікування у цій групі було проведено з 2000 по 2018 р. на базі Національного інституту раку.

Встановлено, що позитивна експресія маркера VEGF була у 8 (80,0 %) пацієнток, а негативна – у 2 (20,0 %) пацієнток. Залежно від локалізації первинної пухлини позитивна експресія визначалась у 6 (75 %) пацієнток з латеральною локалізацією, у 2 (25,0 %) пацієнток – з центральною локалізацією, але жодної пацієнтки з тотальним ураженням не було.

Негативна експресія маркера VEGF зафіксована у 1 (50,0 %) пацієнтки з тотальним ураженням та у 1 (50,0 %) – з латеральною локалізацією пухлини. З центральним розташуванням пухлини – 0 пацієнток.

Також досліджено позитивну експресію маркера VEGF залежно від проведеного хірургічного лікування пацієнток, що представлено на рисунку 7. Аналогічне дослідження проведено при негативній експресії VEGF, яка була зафіксована у 1 (50,0 %) пацієнтки – після виконання комбінованої вульвектомії (ВЕ) та у 1 (50,0 %) пацієнтки після радикальної вульвектомії (РВЕ). Дані представлено на рисунку 8.

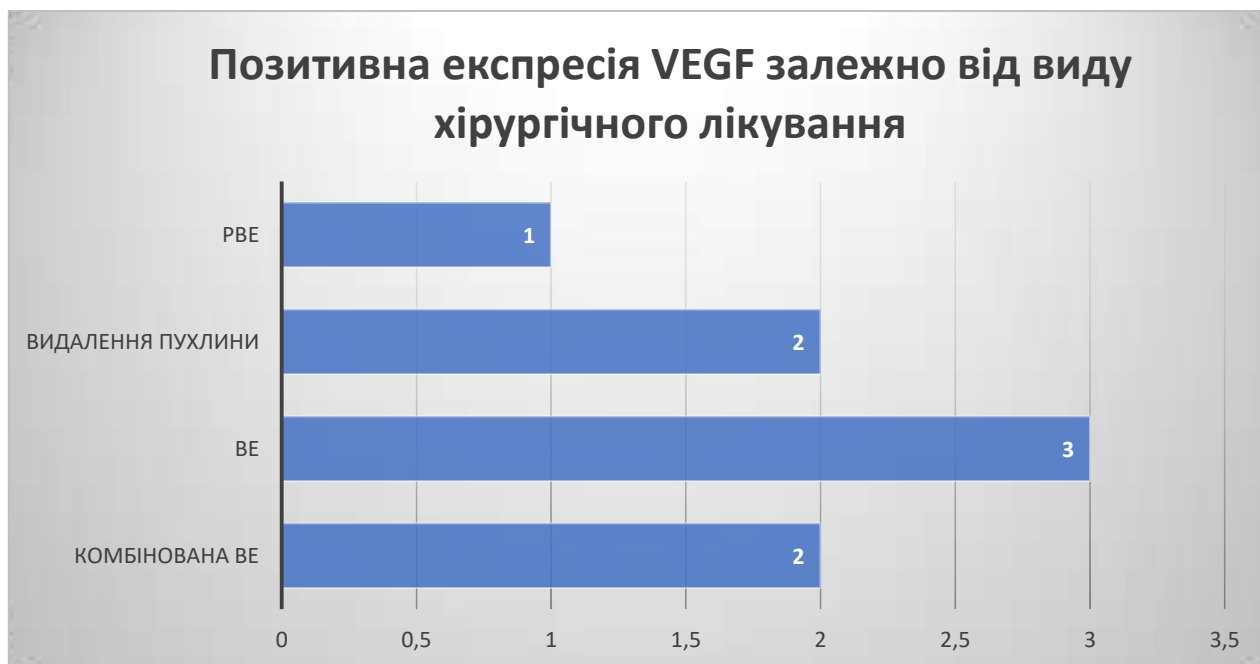


Рис. 7. Позитивна експресія VEGF залежно від виду хірургічного лікування



Рис. 8. Негативна експресія VEGF залежно від виду хірургічного лікування

При проведенні дослідження експресії для маркера СОХ-2 не було зафіксовано пацієток з негативною експресією цього маркера. Позитивна експресія визначалась у 10 (100,0 %) пацієток. Розподіл між пацієтками в групі залежно від локалізації первинної пухлини представлено на рисунку 9.

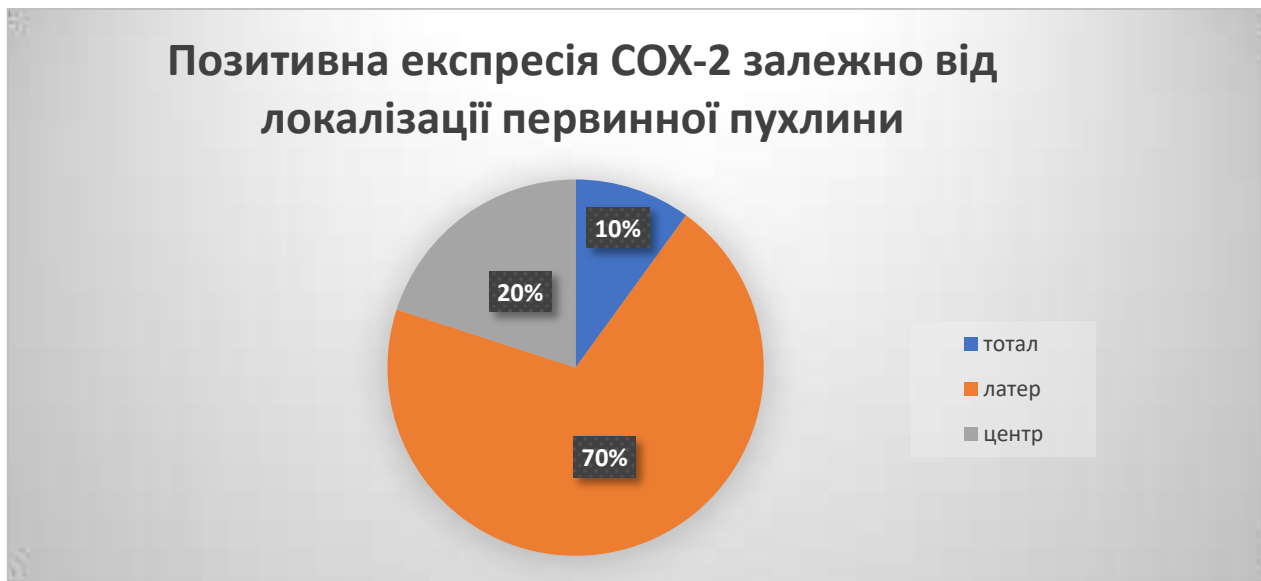


Рис. 9. Позитивна експресія COX-2 залежно від локалізації первинної пухлини

Розподіл пацієток залежно від методу хірургічного лікування при позитивній експресії маркера COX-2 також було досліджено. Встановлено, що 3 (30,0 %) пацієткам було виконано комбіновану вульвектомію, ще 3 (30,0 %) виконано вульвектомію, 2 (20,0 %) було проведено видалення пухлини, 2 (20,0 %) пацієткам – виконано радикальну вульвектомію. Дані наведено на рисунку 10.



Рис. 10. Позитивна експресія маркера COX-2 залежно від виду хірургічного лікування

При вивченні значення експресії маркера СОХ-2, ми не виявили розбіжності у загальній виживаності хворих з позитивною (медіана виживаності склала 100 міс.) та з негативною (медіана виживаності не досягнута) експресією маркера ($\chi^2 - 0,09$; $p=0,83$).

При вивченні значення експресії маркера СОХ-2, ми не виявили розбіжності у безрецидивній виживаності хворих з позитивною (медіана виживаності склала 76 міс.) та з негативною (медіана виживаності 64 міс.) експресією маркера ($\chi^2 - 0,02$; $p=0,89$).

Нами було досліджено загальну виживаність пацієнток з експресією маркера VEGF, використовуючи аналіз Мантела-Кокса, з розрахунком лог-ранк критерію.

Ми не виявили розбіжності у загальній виживаності хворих з негативною (медіана виживаності склала 60 міс.) та позитивною (медіана виживаності не досягнута) експресією маркера ($\chi^2 - 0,1052$; $p=0,7456$). Також нами було досліджено показники безрецидивної виживаності пацієнток з експресією маркера VEGF, використовуючи аналіз Мантела-Кокса, з розрахунком лог-ранк критерію.

Ми не виявили розбіжності у безрецидивній виживаності хворих з позитивною (медіана виживаності склала 32 міс.) та з негативною (медіана виживаності 58 міс.) експресією маркера VEGF ($\chi^2 - 0,02$; $p=0,89$).

Таким чином, на підставі комплексної оцінки результатів проведеного дослідження показано, що розвиток виникнення рецидивів раку вульви є складним процесом, що залежить від ряду факторів: клінічних, морфологічних, молекулярно-біологічних. Водночас, отримані нами дані не дають можливості рекомендувати визначення маркерів VEGF та СОХ-2 з метою прогнозування перебігу захворювання у пацієнток з пухлинами зовнішніх статевих органів.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішено актуальне завдання онкогінекології – проведено аналіз вікових, клінічних, морфологічних особливостей раку зовнішніх статевих органів, розглянуто роль молекулярно-біологічних факторів у прогнозуванні рецидивів раку вульви. Отримані в процесі дослідження результати та їх аналіз дозволили зробити наступні висновки:

1. Сучасними віковими особливостями раку зовнішніх статевих органів є переважний розвиток даної патології у жінок віком понад 60 років (41,9 %) та «помолодшання» раку вульви, з частим виявленням серед жінок середнього (24,9 %) та молодого (10,8 %) віку. Особливістю локалізації пухлин зовнішніх статевих органів є переважне ураження раком вульви (66,4 %), статевих губ (20,1 %), рідше – клітора (4,7 %), бартолінієвої залози (3,9 %), кількох ділянок (3,8 %) та розвиток тотального ураження (1,1 %).

2. За оцінки локального статусу, найвищу смертність доведено при тотальному ураженні (66,7 %), ураженні кількох ділянок (80,9 %). Не встановлено вірогідної розбіжності показника виживаності за методом Каплана-Мейера між методами комбінованого (19,0 % – хірургічний з хіміотерапією та 26,0 % – хірургічний і променевий) та комплексного лікування (12,0 %), з кращими показниками виживаності при радикальному хірургічному лікуванні (54,0 %).

3. Рівень 3-річної безрецидивної виживаності при пухлинах зовнішніх статевих органів досягає 64,9 % ($3,82 \pm 3,18$), ранні рецидиви спостерігаються у 35,1 % жінок. Частота рецидивів коливається від 16,7 % при стадії I (OR – 1,0) до 50,0 та 58,3 % при стадіях III (OR – 3,15) та IV (OR – 4,89); 3-річна безрецидивна виживаність складає 100,0 % при місцевому раку (Tis); 73,2 % – при T1 (OR – 1,0); 64,3 % – при T2 (OR – 1,52); 42,9 % - при T3 (OR – 3,64); 50,0 % – при T4 (OR – 2,73). Критерій Tх є несприятливим, з 3-річною безрецидивною виживаністю 0,0 % (OR – 5,0). Частота 3-річних рецидивів, при відсутності метастазів у лімфатичні вузли, складає 30,4 % (N0), при односторонніх метастазах (N1) – 55,6 %, при двосторонніх – 66,7 % (N2). Вища частота рецидивів зареєстрована у хворих з M1 стадією (75,0 %), порівняно з M0 (32,2 %).

4. Доведено, що рівень 3-річної безрецидивної виживаності за високого ступеня диференціювання сягає 62,0 %, 32,0 % – помірного ступеня диференціювання, 24,0 % – низького. Найкраща безрецидивна виживаність була у хворих з пухлинами задньої статевої спайки (100,0 %), найнижча – при пухлинах малих статевих губ (55,6 %) і тотальному ураженні (50,0 %). Безрецидивна 3-річна виживаність при локалізації пухлин в ділянці вульви складала 65,9 %, великих статевих губ – 65,0 %, бартолінієвої залози – 75,0 %, клітора – 66,7 %.

5. Маркери COX-2 та VEGF не можуть бути рекомендовані для використання як прогностичні у хворих на рак вульви. При дослідженні рівнів експресії молекулярних маркерів VEGF та COX-2, для прогнозування виникнення рецидивів у пацієнток з раком вульви, не встановлено розбіжності у загальній ($\chi^2 - 0,09$; $p=0,83$) та безрецидивній ($\chi^2 - 0,02$; $p=0,89$) виживаності хворих з позитивною та з негативною експресією маркера COX-2. При дослідженні показників безрецидивної виживаності пацієнток з експресією маркера VEGF ми не виявили розбіжності у загальній ($\chi^2 - 0,1052$; $p=0,7456$) та безрецидивній ($\chi^2 - 0,02$; $p=0,89$) виживаності хворих з негативною та позитивною експресією маркера.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Якісний та кількісний аналіз експресії молекулярних маркерів VEGF та COX-2 не може бути включений в обов'язкове скринінгове дослідження для прогнозування рецидивів раку.

2. При первинному огляді жінок з раком зовнішніх статевих органів необхідно враховувати, що розмір пухлини та ступінь диференціювання є найбільш вагомими критеріями для прогнозування виникнення рецидивів.

3. При морфологічному дослідженні пухлин вульви у жінок з плоскоклітинним раком, недиференційованими пухлинами, саркомою та злоякісною меланомою слід відносити до групи високого ризику ранніх рецидивів.

4. У групах хворих на рак вульви високого ризику ранніх рецидивів необхідно обирати радикальні методи хірургічних втручань з доповненням втручаннями на прилеглих органах. При комбінованому лікуванні перевага надається хірургічному та хіміотерапевтичному методам. Через 3, 6, 12 міс. потрібно проводити динамічне спостереження за пацієнтками.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. External genital tumors in women: role of differentiation, localization and histological types for predicting long-term survival value / O.O. Samokhvalova, K.V. Kopchak, Y.G. Tkalia, V.S. Svintsitsky // Репродуктивна ендокринологія. – 2020. – № 6(56). – Р. 35–37. *(Особистий внесок: аналіз історій хвороби, статистична обробка даних, підготовка статті до публікації.)*

2. Рівень летальності хворих з пухлинами зовнішніх статевих органів при ретроспективному 25-річному спостереженні, роль клінічного стадіювання в прогнозуванні віддаленої летальності / О.О. Самохвалова, К.В. Копчак, С.В. Неспрядько, Н.П. Ціп, В.С. Свінцицький // Клін. онкологія. – 2020. – Т. 10, № 3–4 (39–40). – С. 138–142. *(Особистий внесок: аналіз історій хвороби, статистична обробка даних, підготовка статті.)*

3. Самохвалова О.О. Клінічні та морфологічні особливості пухлин зовнішніх статевих органів у жінок, що проходили лікування в Національному інституті раку / О.О. Самохвалова, О.В. Турчак, Ю.Г. Ткаля // Клін. онкологія. – 2019. – Т. 9, № 2 (34). – С. 51–54. *(Особистий внесок: відбір матеріалу та організація проведення імуногістохімічних досліджень, аналіз отриманих результатів, підготовка статті.)*

4. Самохвалова О.О. Дослідження діагностичної інформативності якісного тесту циклооксигенази-2 при пухлинах зовнішніх статевих органів у жінок / О.О. Самохвалова // Здоров'є жінчини. – 2019. – № 7 (143). – С. 90–94.

5. Самохвалова О.О. Клінічні та морфологічні особливості пухлин зовнішніх статевих органів у жінок / О.О. Самохвалова // Сучасні підходи до діагностики та лікування злоякісних захворювань матеріали наук.-практ. конф. (для молодих вчених), 22 березня 2019 р., Київ. – Клін. онкологія. – 2019. – Т. 9, № 1 (33). – С. 61.

6. Комбинированные операции у больных местно-распространенным раком вульвы / Е.А. Колесник, А.А. Самохвалова, А.В. Турчак, Ю.Г. Ткаля //

Перспективи діагностики та лікування онкологічної патології : матеріали наук.-практ. конф. молодих вчених, 18 березня 2016 р., Київ. – Клин. онкология. – 2016. – № 2 (22). – С. 71.

7. The study of the number of tumor-infiltrating FOXP3 positive lymphocytes in endometrial carcinomas in dependence on the mismatch repair status in patients with a family history of cancer / N.P. Iurchenko, O.V. Bryeyeva, O.O. Samohvalova, L.G. Buchynska // Integrated clinical and pathogenetic approaches in diagnosis and therapy of cancer : materials of International scientific conference, June 13–15, 2016, Kyiv, Ukraine. – Exp. Oncol. – Vol. 38, № 2. – P. 133–134.

8. Применение комбинированных операций у больных местнораспространенным раком вульвы / А.А. Самохвалова, А.В. Турчак, Е.А. Колесник, Ю.Г. Ткаля // XIII з'їзд онкологів та радіологів України (матеріали з'їзду), 26–28 травня, 2016 р., м Київ. – Укр. радіол. журн. – 2016. – Додаток 1. – С. 133.

АНОТАЦІЯ

Самохвалова О.О. Клінічні особливості рецидивів раку вульви та молекулярно-біохімічні фактори прогнозу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.07 – онкологія. Національний інститут раку, Київ, 2022.

Дисертацію присвячено дослідженню клінічних та морфологічних особливостей пухлин зовнішніх статевих органів у жінок, закономірностей виникнення рецидивів раку вульви та можливості використання молекулярно-біологічних маркерів COX-2 та VEGF для прогнозування виникнення рецидивів.

Сучасними віковими особливостями хворих на рак зовнішніх статевих органів є розвиток його у жінок віком понад 60 років (41,9 %) та «помолодшання» раку вульви, з частим виявленням серед жінок середнього (24,9 %) та молодого (10,8 %) віку. Особливістю локалізації пухлин зовнішніх статевих органів є переважне ураження вульви (66,4 %), статевих губ (20,1 %), рідше – клітора (4,7 %), бартолінієвої залози (3,9 %), кількох ділянок (3,8 %) та тотальне ураження (1,1 %). Під час ретроспективного аналізу встановлено, що після 2000 р. серед хворих на рак вульви в Національному інституті раку немає хворих з критерієм МХ. Показник 3-річної безрецидивної виживаності при пухлинах зовнішніх статевих органів досягає 64,9 % ($3,82 \pm 3,18$), ранні рецидиви спостерігаються у 35,1 % жінок. Частота рецидивів коливається від 16,7 % при стадії I (OR – 1,0) до 50,0 та 58,3 % при стадіях III (OR – 3,15) та IV (OR – 4,89). Критерій Тх є несприятливим, з 3-річною безрецидивною виживаністю 0,0 % (OR – 5,0). Частота 3-річних рецидивів за відсутності метастазів у лімфатичні вузли складає 30,4 % (N0), при однобічних метастазах (N1) – 55,6 %, при двобічних – 66,7 % (N2).

Доведено, що рівень 3-річної безрецидивної виживаності за високого ступеня диференціювання досягає 62,0 %, помірного ступеня – 32,0 %, низького – 24,0 %. Радикальні хірургічні втручання були ефективнішими, ніж застосування хіміотерапії ($\chi^2 = 54,965$, $p < 0,001$). Виявлено підвищення ($p = 0,024$) ризику виникнення рецидиву при зростанні індексу Т пухлини, HR= 2,1 (95 % ВІ 1,1–3,9) на кожну градацію індексу Т (при стандартизації за ступенем диференціювання пухлини). При дослідженні рівнів експресії молекулярних маркерів VEGF та COX-2, для прогнозування виникнення рецидивів у пацієток з РВ, не встановлено розбіжності показників загальної ($\chi^2 = 0,09$; $p = 0,83$) та без рецидивної ($\chi^2 = 0,02$; $p = 0,89$) виживаності хворих з позитивною та з негативною експресією маркера COX-2. При дослідженні показників безрецидивної виживаності пацієток з експресією маркера VEGF ми не виявили розбіжності у загальній ($\chi^2 = 0,1052$; $p = 0,7456$) та безрецидивній ($\chi^2 = 0,02$; $p = 0,89$) виживаності хворих з негативною та позитивною експресією маркера. Маркери COX-2 та VEGF не можуть бути рекомендовані для використання як прогностичні у хворих на РВ.

Ключові слова: рак вульви, VEGF, COX-2, рецидив, прогноз.

ANNOTATION

Samokhvalova O.O. Clinical features and molecular biochemical factors for the prognosis of vulvar cancer recurrence. – Qualifying research paper as manuscript.

Dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences in the specialty 14.01.07 – Oncology. National Cancer Institute, Kyiv, 2022.

The dissertation is devoted to the study of clinical and morphological features of tumors of the external genital organs in women, the patterns of occurrence of vulvar cancer recurrence and the possibility of using molecular biological markers COX-2 and VEGF to predict the occurrence of relapses.

Modern age-related features of cancer of the vulva are the predominant development of this pathology in women over 60 years old (41,9 %) and the «rejuvenation» of vulvar cancer, with frequent detection among women of middle (24,9 %) and young age (10,8 %). A feature of the localization of tumors of the external genitals is the predominant lesion of cancer of the vulva (66,4 %), labia (20,1 %), less often – the clitoris (4,7 %), Bartholin's gland (3,9 %), several sites (3,8 %) and the development of a total lesion (1,1 %). An increase in overall survival for stages I and II of vulvar cancer after 2010 has been proven. The mortality rate probably increased with signs of lymphatic (N1 – 80,0 %, N2 – 81,5 %) and distant (M1 – 100,0 %) metastasis $p < 0,05$. In a retrospective analysis, it was found that after 2000, among patients with vulvar cancer at the National Cancer Institute, there are no patients with the MX criterion. According to the assessment of the local status, the highest mortality has been proven in total lesions (66,7 %), lesions in several areas (80,9 %). The level of 3-year relapse-free survival in tumors of the external genital

organs reaches 64,9 % ($3,82 \pm 3,18$), early relapses are observed in 35,1 % of women. The recurrence rate ranges from 16,7 % in stage I (OR – 1,0) to 50,0 and 58,3 % in stages III (OR – 3,15) and IV (OR – 4,89); 3-year disease-free survival is 100,0 % for local cancer (Tis), 73,2 % for T1 (OR – 1,0), 64,3 % for T2 (OR – 1,52), 42,9 % – at T3 (OR – 3,64), 50,0 % – at T4 (OR – 2,73). The Tx criterion is unfavorable, with a 3-year disease-free survival of 0,0 % (OR – 5,0). The frequency of 3-year relapses in the absence of metastases in the lymph nodes is 30,4 % (N0), with unilateral metastases (N1) – 55,6 %, with bilateral – 66,7 % (N2). A higher frequency of relapses was registered in patients with M1 stage (75,0 %) compared with M0 (32,2 %). It has been proven that the level of 3-year relapse-free survival with a high degree of differentiation reaches 62,0 %, 32,0 % – with a moderate degree of differentiation, 24,0 % – with a low degree of differentiation. The best relapse-free survival was in patients with tumors of the posterior sexual commissure (100,0 %), the lowest in patients with localized tumors of the labia minora (55,6 %) and total lesions (50,0 %). The relapse-free 3-year survival rate for tumors localized in the vulva was 65,9 %, labia majora – 65,0 %, Bartholin's gland – 75,0 %, clitoris – 66,7 %. Radical surgical interventions were more effective than chemotherapy (χ^2 – 54,965; $p < 0,001$); the 3-year recurrence rate ranged from 15,2 % (radical surgery) to 35,0 % and 41,9 % when surgery was combined with chemotherapy or surgery and radiotherapy. Among the risk factors for the development of recurrence, 2 significant signs were identified: the T index and the degree of tumor differentiation. There was an increase ($p = 0,024$) in the risk of recurrence with an increase in the tumor T index, HR=2,1 (95 % 1,1–3,9) for each gradation of the T index (with standardization by the degree of tumor differentiation). There was also an increase ($p = 0,027$) in the risk of recurrence with a decrease in the degree of tumor differentiation, HR=2,1 (95 % 1,1–3,9) for each gradation of the degree of tumor differentiation. Risk factors for cancer-specific mortality in vulvar cancer are the stage of the process, categories T, N and M, the localization of the process (lateral, central or total lesion), and non-surgical intervention. It was established that radical surgical interventions are more effective than the use of chemotherapy (χ^2 – 54,965; $p < 0,001$). The probable difference in survival by the Kaplan-Meier method between the methods of combined (19,0 % – surgical with chemotherapy and 26,0 % – surgical and radiation) and complex treatment (12,0 %) has not been established, with better survival rates in radical surgical treatment (54,0 %). When studying the expression levels of VEGF and COX-2 molecular markers to predict the occurrence of relapses in patients with vulvar cancer, no difference was found in overall survival (χ^2 – 0,09; $p = 0,83$) and relapse-free survival (χ^2 – 0,02; $p = 0,89$) of patients with positive and negative expression of the COX-2 marker. In the study of relapse-free survival rates in patients with VEGF marker expression, we did not find a difference in overall survival (χ^2 – 0,1052; $p = 0,7456$) and relapse-free survival (χ^2 – 0,02; $p = 0,89$) of patients with negative and positive marker expression. COX-2 and VEGF markers cannot be recommended for use as prognostic markers in patients with vulvar cancer.

Key words: vulvar cancer, VEGF, COX-2, relapse, prognosis.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ,
СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

AR	—	абсолютний ризик
COX-2	—	циклооксигеназа-2
M	—	віддалений метастаз
N	—	регіонарний лімфовузол
OR	—	відношення шансів
RR	—	відносний ризик
T	—	первинна пухлина
TNM	—	клінічна класифікація
VEGF	—	маркер васкулоендотеліального фактора росту
BE	—	вульвектомія
BI	—	вірогідний інтервал
IHX	—	імуногістохімія
PB	—	рак вульви
PBE	—	радикальна вульвектомія