

АННОТАЦИЯ
диссертационной работы
Салиевой Сымбат Сарыбаевны
на тему: «Прогностические факторы влияющие на эффективность
лечения детей со злокачественными экстракраниальными
герминогенноклеточными опухолями», представленной на
соискание степени доктора философии (PhD)
по специальности 6D110100 - «Медицина»

Актуальность темы исследования.

Злокачественные опухоли представляют собой важную медико-социальную проблему. Изучение опухолей, особенно у детей, а тем более редких форм, является актуальной и важной задачей.

Герминогенноклеточные опухоли (ГКО) – группа новообразований, доброкачественного и злокачественного происхождения, развивающаяся из недифференцированных зародышевых клеток. Несмотря на общую теорию происхождения ГКО представляют собой гетерогенную группу новообразований, которые могут возникать в широком диапазоне возрастов и различаются по местоположению, структуре и клиническому поведению. На долю ГКО приходится 3% всех злокачественных новообразований у детей в возрасте 0 - 14 лет, 14% в возрасте 15 - 19 лет.

На сегодняшний день ГКО относятся к наиболее химиочувствительным заболеваниям и представляют собой модель курабельного злокачественного процесса. Применение платиносодержащих схем полихимиотерапии позволили добиться 5-летней выживаемости у 85 - 90% детей с экстракраниальными ГКО [D'Angelo P., Depanì S.]. Выбор тактики лечения на сегодняшний день основан на гистологической верификации диагноза, интеграции информации, полученной с помощью визуальных методов диагностики и классических опухолевых маркеров. Однако, несмотря на достигнутые результаты в терапии некоторые пациенты прогрессируют во время или после стандартной терапии, что возможно связано с «недостаточным лечением». Также актуален вопрос предупреждения поздних осложнений, после проведенной химиотерапии, в связи с «чрезмерным лечением». Исходя из этого, важным является изучение факторов прогноза, которые позволяют стратифицировать пациентов на группы риска и решать вопросы дальнейшей тактики ведения. Имеющиеся системы стратификации, основанные на клинических факторах прогноза не всегда позволяют точно предсказать исход лечения. Поэтому актуальным направлением является поиск новых биологических маркеров, способных улучшить прогностическую оценку заболевания и помочь в индивидуализации лечения.

МикроРНК представляют собой перспективные биологические маркеры, которые показали свою эффективность в диагностике, прогнозировании и мониторинге рецидивов при различных типах рака. Исследования последних лет показали, что некоторые микроРНК, такие как микроРНК371-373 и

микроРНК302/367, являются высокочувствительными и специфичными маркерами для злокачественных ГКО [Roger D. P., Murray M.J.].

Таким образом, изучение прогностических факторов остается актуальной задачей, направленной на улучшение результатов лечения пациентов с ГКО.

Цель исследования: изучить факторы прогноза, влияющие на эффективность лечения злокачественных экстракраниальных герминогенноклеточных опухолей с целью улучшения выживаемости.

Задачи исследования:

1. Оценить показатели выживаемости у детей с экстракраниальными герминогенноклеточными опухолями.
2. Провести однофакторный анализ клинико-морфологических данных, ассоциированных с неблагоприятным прогнозом при экстракраниальных герминогенноклеточных опухолях у детей.
3. Провести многофакторный анализ с использованием регрессионной модели Кокса для выявления независимых предикторов, значимо влияющих на выживаемость у детей с экстракраниальными герминогенноклеточными опухолями
4. Создание прогностической модели вероятности возникновения события на основании клинико-морфологических факторов.
5. Изучить диагностическое и прогностическое значение экспрессии микроРНК при злокачественных экстракраниальных герминогенноклеточных опухолях у детей.

Научная новизна:

1. В Республике Казахстан впервые создан клинический регистр для детей с экстракраниальными ГКО.
2. Впервые изучена экспрессия микроРНК у педиатрических пациентов, как с гонадной, так и с экстрагонадной локализацией ГКО.

Практическая значимость работы

1. Платиноориентированная химиотерапия согласно протоколу MAKEI является высокоэффективной у детей со злокачественными экстракраниальными ГКО, что позволило повысить общую пятилетнюю выживаемость на 13%, с 68% до 81%.
2. Разработанная прогностическая модель на основе клинико – морфологических факторов позволяет выявить неблагоприятное событие на ранних стадиях развития у пациентов с экстракраниальными злокачественными ГКО имеющих изначально высокий уровень, нарушение кинетики АФП и неполный статус резекции.
3. МикроРНК 371, 372, 373, 367, 302d показали себя высокоспецифичными и высокочувствительными маркерами злокачественных ГКО по сравнению с сывороточным АФП. Мониторинг микроРНК в ходе терапии позволит своевременно выявить риск возникновения неблагоприятного события у пациентов с ГКО.

Материалы исследования. Материалом для исследования послужили сведения детей в возрасте до 18 лет с экстракраниальными ГКО, получавшие

химиотерапию на основе препаратов платины по протоколу MAKEI2005 в отделениях онкологии/гематологии АО «Научный центр педиатрии и детской хирургии» с февраля 2013г. по май 2022г.

Для осуществления поставленных задач исследования в Республике Казахстан впервые был создан клинический регистр для пациентов с экстракраниальными ГКО. Всего за анализируемый период было зарегистрировано 141 пациентов. Согласно гистологической классификации ВОЗ у 45 пациентов (31,9%) морфологически верифицирована тератома, у 96 (68,1%) - злокачественные варианты ГКО.

Методы исследования: клинический, лабораторно-диагностический, инструментальный, статистический.

Клинический метод исследования заключался в сборе анамнеза и физикальном осмотре пациентов. Лабораторно-диагностический и инструментальный методы исследования включали определение уровней сывороточных онкомаркеров (АФП, ХГЧ, ЛДГ), визуальные методы исследования (УЗИ, КТ/МРТ), гистологическое и иммуногистохимическое исследование тканей опухоли, количественную полимеразно-цепную реакцию (ПЦР) с обратной транскрипцией.

Изучение экспрессии микроРНК состояло из 2 этапов: ретроспективно - экспрессия микроРНК в ткани опухоли и проспективно - экспрессия микроРНК как в ткани опухоли, так и сыворотке крови пациентов на разных этапах терапии. В ретроспективном анализе изучены ткани образования 84 детей с ГКО и 11 детей с неонкологической патологией (группа контроля). Для анализа использовали 10 микроРНК, полученных при обзоре данных литературы, которые потенциально могли быть ассоциированы с ГКО (кластеры микроРНК371-373, микроРНК302/367, микроРНК375, микроРНК200). В проспективном анализе изучалась экспрессия 9 микроРНК в ткани опухоли и сыворотке крови у 20 детей с ГКО и 7 детей с неонкологической патологией. Из анализа была исключена микроРНК200b на основании ретроспективного анализа.

Статистический анализ включал в себя анализ нормальности распределения данных, оценку выживаемости, регрессионный анализ и ROC анализ. Для определения нормальности распределения данных были проведены тест Шапиро - Уилка, гистограмма и установлено, что количественные данные распределены в отличие от нормального закона. Это послужило основанием для возможности использования непараметрических сравнений. Для сравнительного анализа при сравнении двух групп был применен критерий Манна – Уитни, при сравнении трех групп использован критерий Краскела-Уоллиса. Выживаемость анализировалась по методу Каплана-Мейера и сравнивалась по логарифмическо-ранговому тесту. С помощью коэффициентов связи было определено качество модели взаимосвязей переменных и результирующего признака. Совокупное межфакторное воздействие было оценено с использованием регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса. В исследовании проводилась оценка информативности диагностического теста, а именно определение его

чувствительности, специфичности. Исходя из значений чувствительности и специфичности, были построены характеристические кривые (ROC-кривая), с помощью пакета программ для биомедицинских наук «Medcalc», version 12.2.1.0.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Общая пятилетняя выживаемость у детей с экстракраниальными ГКО составила 84%, бессобытийная выживаемость - 79%, что сопоставимо с результатами крупных мировых центров.

2. Статус резекции, инициальный уровень АФП более 10 000нг/мл и замедленная кинетика АФП являются статистически значимыми предикторами неблагоприятного прогноза по ответу на терапию.

3. Прогностическая модель, созданная на основе клинимоρφологических факторов позволяет выявить категорию пациентов с высоким риском возникновения события. У пациентов со статусом резекции R0 вероятность возникновения события ниже в 9,1 раз, чем у пациентов со статусом резекции R1 и в 15,8 раз по сравнению с пациентами со статусом резекции R2. У пациентов с исходным уровнем АФП более 10 000нг/мл в 3,9 раз больше риск неблагоприятного исхода по сравнению с группой пациентов с уровнем АФП менее 10 000нг/мл. У пациентов с нарушением кинетики АФП в 3,2 раза выше вероятность возникновения события по сравнению с группой с нормальным снижением уровня АФП.

4. МикроРНК371-373, 367 и 302d являются высокодиагностическими и прогностическими предикторами злокачественных ГКО и могут потенциально использоваться как новые биомаркеры, позволяющие определять персонализированный подход в лечении.

Выводы:

1. Общая пятилетняя выживаемость всех пациентов включенных в данное исследование составила 84%, бессобытийная выживаемость 79%. В группе злокачественных ГКО общая пятилетняя выживаемость - 81%, бессобытийная - 73%.

2. Неблагоприятными факторами прогноза у детей с экстракраниальными ГКО являются: экстраганадное расположение опухоли ($p < 0,0001$), распространенная стадия заболевания ($p = 0,0141$), инициальный уровень АФП более 10 000нг/мл ($p = 0,0216$), замедленная кинетика АФП ($p = 0,0002$), неполная резекция ($p < 0,0001$) и неполный ответ на терапию ($p = 0,0079$).

3. При многофакторном анализе выявлены статистически значимые предикторы возникновения неблагоприятного события: неполная резекция опухоли, исходный уровень АФП более 10 000нг/мл и замедление кинетики АФП ($p < 0,0001$).

4. Согласно разработанной прогностической модели у пациентов с полным удалением опухоли вероятность возникновения события ниже в 9,1 раз, чем у пациентов с микроскопической остаточной опухолью и в 15,8 раз по сравнению с пациентами с макроскопической остаточной опухолью. При исходном уровне АФП более 10 000нг/мл риски повышаются в 3,9 раза по

сравнению с АФП менее 10 000нг/мл, при нарушении кинетики АФП в 3,2 раза выше по сравнению с нормальным снижением уровня АФП.

5. Сверхэкспрессия микроРНК302/367 и микроРНК371-373 характерна для злокачественных ГКО ($p < 0,001$) и не характерна для тератом, что подтверждает их диагностическую значимость.

6. Сывороточные микроРНК302d, 367, 371, 372, 373 являются потенциальными прогностическими маркерами злокачественных ГКО ($p < 0,001$) и могут использоваться для мониторинга терапии, демонстрируя высокую информативность в выявлении событий раньше, чем сывороточный АФП.

Практические рекомендации

1. Применение платиносодержащих схем химиотерапии является эффективным с высокой вероятностью выживаемости (81%) у детей с злокачественными экстракраниальными ГКО.

2. МикроРНК371,372,373,367 и 302d являются потенциальными предикторами событий у пациентов со злокачественными ГКО, более высокочувствительные чем АФП.

3. Учитывая результат многофакторного анализа, в регионах у пациентов с подозрением на ГКО и повышенных уровнях стандартных онкомаркеров избегать проведения нерадикальных операций и срочно направлять в республиканские центры для комплексного обследования и решения тактики терапии.

4. Для ранней диагностики событий в течение первых 24 месяцев после окончания лечения рекомендуется тщательный мониторинг за уровнем сывороточных биохимических маркеров (АФП и ХГЧ), поскольку большинство рецидивов происходят в течение этого промежутка времени.

5. Разработанная схема стратификации пациентов со злокачественными ГКО с учетом экспрессии сывороточных микроРНК позволит врачам практического здравоохранения своевременно выявить контингент группы риска по возникновению неблагоприятных событий с дальнейшим выбором тактики ведения.

Личный вклад докторанта. Автор непосредственно принимала участие во всех этапах исследования: от постановки цели и задач, разработки дизайна исследования, провела тщательный литературный обзор, занималась сбором данных, созданием клинического регистра, анализом полученных данных, статистической обработкой и интерпретацией результатов. Автором подготовлен проект по изучению экспрессии микроРНК в сыворотке крови и данный фрагмент диссертационной работы был выполнен в рамках целевой программы, финансируемой Министерством Здравоохранения Республики Казахстан: BR11065390 «Разработка и развитие инновационных технологий ранней диагностики и лечения злокачественных заболеваний с учетом современных подходов геномики».

Апробация работы.

Результаты проведенных исследований по теме диссертации доложены и обсуждены на конференциях республиканского и международного уровней:

➤ Международная научно-практическая конференция «Молодой исследователь: вызовы и перспективы развития современной педиатрии и детской хирургии», 01.03.2019г г.Алматы. Доклад на тему: «Клинико-морфологические особенности экстракраниальных герминогенноклеточных опухолей у детей».

➤ VII съезд онкологов и радиологов Казахстана. Сессия молодых ученых. 18-19 октября 2019 г.Нур-Султан. Доклад на тему: «Факторы прогноза в лечении экстракраниальных герминогенноклеточных опухолей у детей»

➤ Научно-практическая конференция «Интеграция педиатрической науки, образования и практики», в рамках Программы Дней Университета 2019 «Педиатрия XXI века. Современные вызовы и тенденции», в г.Алматы, 6 декабря 2019г. Доклад на тему «Оценка факторов прогноза при экстракраниальных герминогенноклеточных опухолях у детей».

➤ Международная научно-практическая конференция «Молодой исследователь: вызовы и перспективы развития современной педиатрии и детской хирургии» в рамках празднования 90-летия КазНМУ имени С.Д.Асфендиярова, 3 марта 2020г. Доклад на тему: «Роль прогностических факторов в лечении экстракраниальных герминогенноклеточных опухолей у детей». Доклад награжден дипломом 1 места в номинаций «Лучший устный доклад».

➤ V съезд онкологов Республики Молдова, 8-9 октября 2020г. Доклад на тему: «Результаты лечения детей и подростков с экстракраниальными герминогенноклеточными опухолями».

➤ Международная научно-практическая конференция «Молодой исследователь: вызовы и перспективы развития современной педиатрии и детской хирургии», посвященная памяти Н.Н.Ахпарова, 22 апреля 2020г. Доклад на тему: «Анализ экспрессии микроРНК при герминогенноклеточных опухолях».

➤ V Международный научно – образовательный форум «Ана мен бала», 19-20 мая 2022г. Доклад: «Онконастороженность при тератомах у новорожденных».

➤ Международная научно-практическая конференция «Современные лечебные и диагностические технологии в детской онкологии и гематологии», посвященной 30-летию онкогематологической службы в РК, 11-12 мая 2023г. Доклад на тему: «Сывороточные микроРНК в диагностике и мониторинге герминогенноклеточных опухолей»

➤ SIOP ASIA XV Congress, Yerevan, Armenia. 18-21 May, 2023. Poster presentation «Circulating microRNAs in diagnosis of children with germ cell tumors».

Публикации по теме диссертации.

По материалам диссертации опубликованы 14 печатных работ, из них:

➤ в журналах, индексируемых в базе данных Scopus с не менее 25 процентиль – 2, менее 25 процентиль – 2.

➤ в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере образования и науки Республики Казахстан – 3.

➤ в материалах международных конференций – 7.

Получены 4 авторских свидетельства.

Разработаны и опубликованы методические рекомендации: «Ранняя диагностика и лечение детей с экстракраниальными герминогенноклеточными опухолями».

Структура и объем диссертационной работы.

Диссертационная работа изложена на 126 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных результатов исследования, обсуждения, заключения, списка использованных источников, приложений. Работа иллюстрирована 51 картинками и 28 таблицами. Библиографический список содержит 189 источников.