

На правах рукописи

КРЫЛОВЕЦКАЯ МАРИЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ТАКТИКА ПРИ МЕТАСТАЗАХ МЕЛАНОМЫ
В ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ БЕЗ ВЫЯВЛЕННОГО ПЕРВИЧНОГО ОЧАГА**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой
степени кандидата медицинских наук

Москва – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ректор - доктор медицинских наук, профессор, профессор РАН, академик РАН Сычев Дмитрий Алексеевич)

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор

Комаров Игорь Геннадьевич

Официальные оппоненты:

Титов Константин Сергеевич, доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы Городской клинической больницы имени С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы.

Поляков Андрей Павлович, доктор медицинских наук, заведующий отделением микрохирургии Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена - филиала федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «15» февраля 2024 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета 21.1.032.01, созданного на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, по адресу: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, по адресу: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24 и на сайте www.ronc.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2023 года

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Кадагидзе Заира Григорьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Метастазы злокачественной опухоли без выявленного первичного очага — понятие, включающее в себя случаи онкологического заболевания, проявляющегося метастатическими опухолями, в то время как первичный очаг невозможно установить ни на основании анамнеза, ни при обследовании. По данным различных авторов такие пациенты составляют от 2 до 10% онкологических больных, обратившихся за медицинской помощью. Такое проявление заболевания нередко встречается и при меланоме. За последние три десятилетия в России и в мире отмечается неуклонный рост заболеваемости меланомой.

Меланома без выявленного первичного очага является гетерогенным заболеванием и представлена морфологически подтвержденными метастазами одной или нескольких локализаций: лимфатические узлы, подкожная клетчатка, мягкие ткани, кожа, внутренние органы. Меланома без выявленного первичного очага чаще всего выявляется в лимфатических узлах (40-60 % всех случаев) и поражает подмышечные, шейные, паховые, околоушные лимфатические узлы в 52,2%, 32,7%, 28,3% и 2,6% случаев соответственно. Пациенты с метастазами меланомы без ВПО составляют примерно от 1 до 8% от всех случаев меланомы и до 12,6 % - среди всех случаев метастазов рака без первичной опухоли.

При метастазах меланомы без выявленного первичного очага идентификация первичной опухоли при её локализации на коже не представляет сложностей, однако при расположении первичного очага на слизистой, его выявление может быть весьма затруднительным. В то же время в доступных источниках нет данных о том, влияет ли выявление первичного очага на прогноз заболевания у больных с метастазами меланомы.

Таким образом, проблема метастатического поражения меланомой без выявленного первичного очага представляет собой сложный вопрос в онкологии, требующий тщательного изучения. Для ответа на поставленные задачи необходимо проведение исследования, основанного на репрезентативном материале, позволяющем провести полноценный анализ и сравнение ретроспективных данных, полученных при сравнении групп пациентов.

Цель исследования

Улучшение результатов лечения больных с метастазами меланомы без выявленного первичного очага.

Задачи исследования

1. Сравнить особенности клинического течения метастазов меланомы без выявленного первичного очага и меланомы с известной локализацией и аналогичными метастазами.

2. Оценить прогностическое значение факта выявления первичного очага при метастазах меланомы.
3. Определить значение панели иммуногистохимических реакций, включая HMB45, Melan A, MITF, S-100, тирозиназу для дифференциальной диагностики меланомы и других опухолей при метастазах без выявленного первичного очага.
4. Изучить частоту обнаружения диссеминированных опухолевых клеток в костном мозге при меланоме в зависимости от клинических и морфологических характеристик опухоли.
5. Разработать диагностический алгоритм и практические рекомендации для больных метастазами меланомы без выявленного первичного очага.

Методология и методы исследования

Для проведения диссертационного исследования была выбрана группа пациентов с метастазами меланомы в лимфатических узлах. Проведен анализ полученных данных и разработан алгоритм по диагностике меланомы без выявленного первичного очага. Для проведения статистического анализа полученных результатов работы был разработан специальный кодификатор. Все данные, касающиеся 263 больных меланомой были внесены в таблицы и обработаны при помощи программы SPSS, v. 21. Достоверность различий между количественными показателями вычисляли по критерию t Стьюдента для нормально распределенных величин или по непараметрическому критерию Манна – Уитни. Для установления связи между двумя дискретными величинами, в зависимости от их типа и получаемых таблиц сопряженности использовали точный критерий Фишера и χ^2 по Пирсону, различия считали значимыми при $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили по Пирсону или Спирмену.

Научная новизна

Впервые в Российской Федерации на большом клиническом материале подробно изучены демографические, клинические и морфологические особенности больных метастазами меланомы без выявленного первичного очага. Проведена сравнительная оценка клинического течения метастазов меланомы без выявленного первичного очага и меланомы с известной локализацией и аналогичными клиническими проявлениями. Разработан алгоритм диагностических и лечебных мероприятий, позволяющий проводить больным с метастазами меланомы без выявленного первичного очага комплексное лечение. На основании сравнения групп пациентов с метастазами меланомы без установленной первичной опухоли и меланомы с известной локализацией и аналогичными метастазами установлено отсутствие достоверных различий в клиническом течении.

Теоретическая и практическая значимость

Разработанная тактика диагностики позволяет персонализировать лечение больных метастазами меланомы без выявленного первичного очага, что позволило улучшить результаты лечения данной когорты пациентов.

Личный вклад

Автором самостоятельно проведен анализ отечественной и зарубежной литературы, касающейся проблемы диагностики при метастазах меланомы без выявленного первичного очага, на основании чего были сформулированы цель и задачи исследования. Создана и наполнена база данных, разработан дизайн исследования. Статистическая обработка данных, интерпретация полученных результатов и оформление диссертационной работы проведены лично автором.

Соответствие паспорту специальности

Диссертация Крыловецкой Марии Александровны соответствует паспорту специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, направлению исследований п. 3 «Разработка и совершенствование программ скрининга и ранней диагностики онкологических заболеваний».

Положения, выносимые на защиту

1. Клиническое течение метастазов меланомы без выявленного первичного очага может протекать более благоприятно по сравнению с пациентами с выявленной первичной опухолью.
2. Определение диссеминированных опухолевых клеток в костном мозге у больных меланомой имеет важное значение, так как позволяет установить истинную распространенность опухоли, что влияет на эффективность лечения и выживаемость больных.

Внедрения результатов исследования

Полученные автором результаты исследования легли в основу диагностического алгоритма при метастазах меланомы в лимфатических узлах без выявленного первичного очага, который используется в клинической работе отделения опухолей кожи отдела лекарственного лечения НИИ клинической онкологии им. академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Апробация

Апробация диссертации состоялась на совместной научной конференции с участием отделения эндоскопического, отделения абдоминальной онкологии No4 (эндокринной хирургии), отделения опухолей костей и мягких тканей No2 (онкоортопедии) и отделения опухолей головы и шеи НИИ клинической онкологии имени академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, кафедры

онкологии и паллиативной медицины им. А.И. Савицкого ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, состоявшейся 01 июня 2023 года.

Публикации

Результаты исследования представлены в 5 научных статьях, которые опубликованы в научных журналах, рекомендуемых ВАК при Минобрнауки России для публикаций материалов кандидатских и докторских диссертаций.

Объем и структура работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы описания материала и методов исследования, глав результатов собственных исследований, главы обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, списка сокращений, списка литературы. Работа изложена на 92 страницах печатного текста, иллюстрирована 18 таблицами, 16 рисунками. В списке литературы содержится 143 источников, из них 97 зарубежных и 46 отечественных изданий.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Для проведения исследования был разработан оригинальный дизайн, состоящий из клинического и экспериментального разделов.

В клинический раздел исследования включено 263 пациента с метастазами меланомы в лимфатических узлах, получивших лечение и наблюдавшихся в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России с 2005 г. по 2019 г. Осуществлен ретроспективный анализ клинического материала — историй болезни и амбулаторных карт пациентов, с верифицированным диагнозом меланомы в лимфатических узлах, получавших лечение согласно клиническим рекомендациям Минздрава России. При формировании групп исследования проведен анализ документации пациентов: историй болезни, амбулаторных карт, протоколов операций, протоколов гистологических и цитологических исследований, выписных эпикризов 263 больных.

В экспериментальный раздел работы включены пациенты, у которых получены образцы костного мозга путем пункции задней верхней ости подвздошной кости. Проведено морфологическое исследование с подсчетом показателей миелограммы и поиском опухолевых клеток, а также иммунологическое исследование методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител, напрямую меченных различными флюорохромами.

Все пациенты были разделены на две группы. В первую группу (основную) вошли 99 больных с морфологически подтвержденным диагнозом «метастазы меланомы в

лимфатических узлах без выявленного первичного очага». Во вторую (контрольную) - 164 пациента с метастазами при известном первичном очаге, причем у 97 больных были аналогичные метастазы меланомы в лимфатических узлах, а 67 пациентам было выполнено морфологическое и иммунологическое исследование костного мозга с целью изучения течения и прогноза заболевания.

Материалы и методы исследования

Все пациенты, поступившие и наблюдавшиеся в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, подверглись общепринятому клиническому обследованию, включавшему сбор анамнеза, физикальное обследование, клиническое и биохимическое исследование крови. Обязательным этапом являлось выполнение УЗИ регионарных лимфатических узлов (n=197) с обязательной оценкой объема и числа пораженных лимфатических узлов, а также оценкой возможности выполнения пункционной биопсии и core-биопсии, УЗИ органов брюшной полости и органов малого таза. В случае поражения шейно-надключичных лимфоузлов обязательным исследованием являлась консультация отоларинголога с проведением риноскопии и ларингоскопии (n=43), КТ головы и шеи (n=43), эзофагогастроскопия (n=43). При поражении подмышечных лимфоузлов обязательным этапом обследования является проведение маммографии (n=42), бронхоскопии, эзофагогастроскопии (n=84), КТ органов грудной клетки (n=84). При поражении паховых и бедренных лимфатических узлов обследование включает КТ малого таза (n=51), колоноскопию, консультацию гинеколога (n=26) с возможным проведением гистероскопии и цистоскопии. ПЭТ-КТ проведена в двух случаях в связи с недостаточной доступностью этого диагностического метода на момент отбора пациентов.

Диагноз меланомы установлен всем больным на основании гистологического и иммуногистохимического исследования, что является «Золотым стандартом» для диагностики и постановки диагноза. Большое значение в диагностике метастазов меланомы без выявленного первичного очага имеет морфологическое исследование биопсийного материала, операционного материала, выполнение иммуногистохимического исследования опухоли при сложности ее верификации, а также молекулярно-генетического анализа на предмет определения терапевтически значимых мутаций для оценки возможности проведения таргетного лечения. Морфологическая верификация диагноза у больных проводилась путем цитологического, гистологического и иммуногистохимического исследований.

Иммунологическое исследование костного мозга проводилось методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител, напрямую меченных различными

флюорохромами. Используемые в работе моноклональные антитела представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Моноклональные антитела, использованные в исследовании.

№	Антитело	Флуоресцентная метка	Производитель
1	CD45	V500-A, V450, PerCP	Becton Diskinson, США
2	HMB-45	APC-A	Santa Cruz, Biotechnology, Dallas, Tx, USA
3	Syto41	APCH7	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA

Диссеминированные опухолевые клетки (ДОК) выявлялись по отсутствию экспрессии панлейкоцитарного антигена CD45 в сочетании с экспрессией HMB-45 среди всех ядродержащих клеток (Syto41+). Анализировались 20 млн миелокариоцитов (или все клетки образца), при этом положительными считались случаи при обнаружении не менее 1 клетки на 10 млн миелокариоцитов.

Результаты исследования

Статистической разницы по возрасту и полу между основной и контрольной группами пациентов получено не было ($p > 0,05$).

В исследование в обеих группах в большем количестве вошли пациенты с метастазами меланомы в подмышечных лимфатических узлах. Шейные и паховые лимфоузлы были поражены примерно в одинаковой степени (Таблица 2).

Таблица 2 – Группы пораженных лимфатических узлов

Пораженные лимфоузлы	Подмышечные лимфоузлы	Шейные лимфоузлы	Паховые лимфоузлы	Прочие
«Основная группа (N=99 чел)	41 (41,5%)	23 (23,2%)	24 (24,2%)	11 (11,1%)
Контрольная группа (N=97 чел)	43 (44,4%)	20 (20,6%)	27 (27,8%)	7 (7,2%)

В основной группе у 95 (96%) пациентов отмечалось преимущественно одностороннее поражение лимфоузлов и лишь у 4 (4,0%) было двустороннее поражение. В контрольной группе наблюдалась аналогичная картина, преобладало одностороннее поражение лимфатических узлов – 92 (94,9%) пациентов и у 5 (5,1%) – было двустороннее поражение.

Анализ локализации метастазов в лимфатических узлах в контрольной группе в зависимости от локализации первичного очага меланомы представлена в таблице 3. Локализация первичного очага у 14 (14,4%) больных была в области головы: из них у 6(6,2%) - кожа теменной области и 8 (11,9%) - кожа височной области, у 29 (29,9%) пациентов - в области спины, у 22 (22,7%) больных меланома локализовалась в области нижних конечностей, в 15 (15,5%) случаях – в области грудной стенки и у 4 (4,2 %) больных – в области передней брюшной стенки, у 6(6,2%) пациентов - в области шеи.

Таблица 3 - Локализация первичного очага и метастазов у больных контрольной группы

Локализация первичного очага	Локализация пораженных лимфатических узлов	Количество
Теменная область	Шейные	3
	Над/подключичные	3
Височная область	Шейные	4
	Над/подключичные	4
Спина	Подмышечные	22
	Паховые	6
	Шейные	1
Нижняя конечность	Шейные	5
	Паховые	17
Грудная стенка	Подмышечные	13
	Шейные	1
	Паховые	1
Передняя брюшная стенка	Паховые	3
	Подмышечные	1
Шея	Шейные	6
Верхняя конечность	Подмышечные	7

Основным методом получения материала по месту жительства в основной группе была пункционная биопсия у 37 больных (37,3%). Другими методами взятия материала были открытая биопсия у 33 (33,2%) пациентов и core-биопсия у 16 (16,1%) больных. У 13(13,4%) пациентов материал был получен при операции (различные виды лимфодиссекций). Объектами для забора материала были: подмышечные лимфоузлы -38(38,3%), шейные лимфоузлы - 28(28,2%), паховые лимфоузлы 26(26,2%), надключичные лимфоузлы 4(4,3%), лимфоузлы слюнных желез 3 (3,0%).

В контрольной группе по месту жительства первичный диагноз: меланома был подтвержден у 59 (60,8%) пациентов путём иссечения первичного очага.

По результатам морфологической верификации до обращения в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина в основной группе были получены следующие результаты: метастаз меланомы у

51(51,5%), метастаз светлоклеточной меланомы у 9(9,1%), метастаз пигментной меланомы у 11(11,2%), метастаз беспигментной меланомы у 3(3,0 %), метастаз рака молочной железы у 3(3,0 %), рак без дополнительных уточнений у 6(6,1%), низкодифференцированная карцинома у 2 (2,0%), не обнаружено заболевания (гиперплазия) у 1 (1,0%) пациента.

В соответствии с распространенностью опухолевого процесса пациентам в обеих группах назначались различные варианты лечения. В группе пациентов с метастазами меланомы без выявленного первичного очага хирургическое лечение в объеме радикального иссечения метастатической опухоли было выполнено 12 (12,1%) пациентам из них четверым больным лечение было дополнено полихимиотерапией (ПХТ), полихимиотерапия – 8 (8,1%) больным, лучевая терапия 1(1,0%), никакого лечения не проводилось у 78 (78,8%) лиц. Схемы ПХТ включали в себя: Дакарбазин 2 (2,0%), CVD 2 (2,0%), мюстафарон + реальдирон 2 (2,0%), дакарбазин + цисплатин 1 (1,0%), другие 5 (5,1%), 87 (87,1%) ПХТ не назначалась.

В контрольной группе пациентов хирургическое лечение (радикальное иссечение опухоли) было выполнено 35 (36,0%) пациентам, хирургическое лечение с последующим назначением интерферона - 9 (9,3%) больным, хирургическое лечение и лучевая терапия назначалась 2 (2,1%) пациентам, химиолучевая терапия 2(2,1%), комплексное лечение потребовалось 2 (2,1%). В 44 (45,4%) случаях было рекомендовано динамическое наблюдение.

При обращении в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина пересмотр гистологического материала в основной группе осуществлялся у 32(32,3%) пациентов, у 67 (67,7%) - не производился. Далее, при повторном комплексном обследовании, рецидив был выявлен у 13(13,1%) пациентов, без рецидива были 86 (86,9%) больных. Основной, по-прежнему, оставалась жалоба на наличие опухоли - увеличение лимфатических узлов 72(72,7%). Поражение одной зоны наблюдалось у 79(79,8%) пациентов, нескольких - у 14(14,1%). Поражение единичных лимфоузлов было отмечено у 39(39,4%) больных, а конгломерат лимфоузлов был выявлен у 54(54,4%) человек. Основными методами получения материала для морфологического исследования также оставались пункционная биопсия и core- биопсия.

В группе пациентов с метастазами меланомы без выявленного первичного очага, помимо стандартного гистологического исследования, для верификации и проведения дифференциальной диагностики выполнялось иммуногистохимическое исследование 24 пациентам (24 %) из 99. На основании результатов иммуногистохимического исследования (панель представлена на рисунке 1) в ряде случаев удалось не только подтвердить диагноз: меланома, но и установить, что 11 (11%) больным по месту жительства был поставлен неверный морфологический диагноз: рак без дополнительных уточнений у 6(6,1%), метастаз рака молочной железы у 3(3,0 %), низкодифференцированная карцинома у 2 (2,0%).

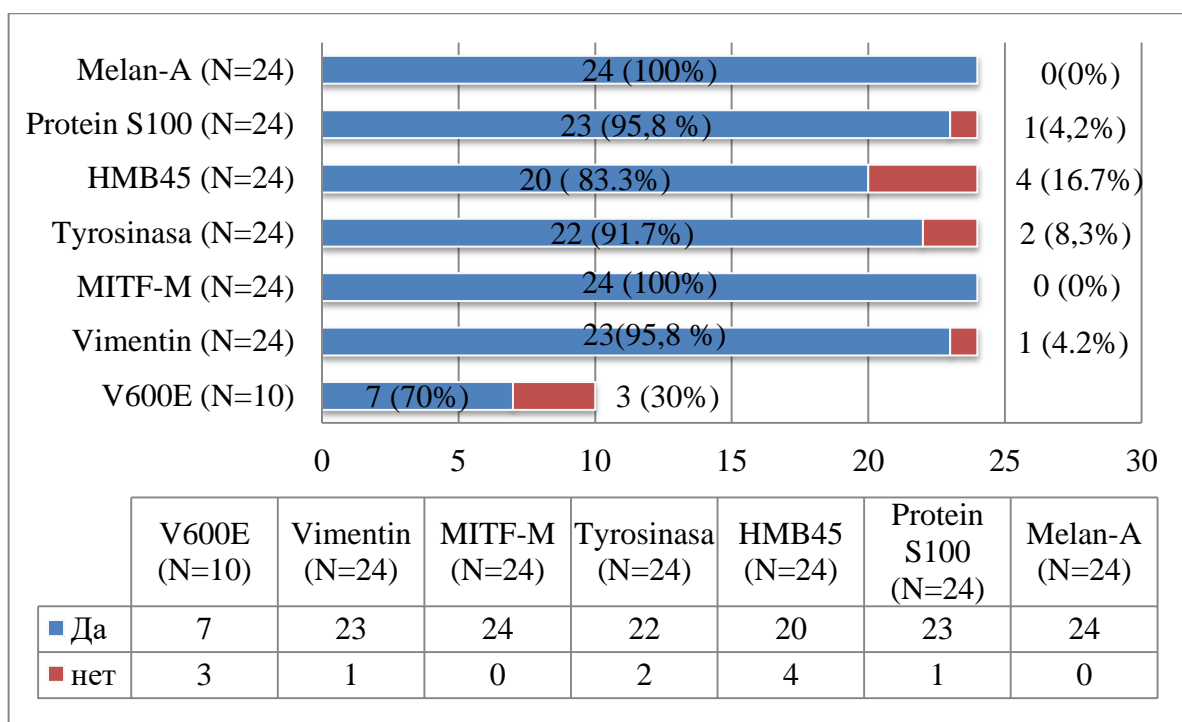


Рисунок 1 – Панель иммуногистохимических показателей, необходимых для подтверждения диагноза: меланома

В этой же группе на основании данных первичной биопсии диагноз не смогли поставить 13 пациентам. Это в дальнейшем потребовало выполнения повторной расширенной биопсии метастатической опухоли с последующим иммуногистохимическим исследованием для дифференциальной диагностики меланомы и других опухолей при метастазах без выявленного первичного очага.

Пациентам в контрольной группе также было проведено комплексное обследование. Морфологическая верификация диагноза проводилась путем гистологического исследования у 82 (84,5%) больных, цитологического исследования - у 2(2,1%) пациентов и путем иммуногистохимического исследования - у 3(3,1%) больных (Таблица 4). У 10 (10,3%) лиц диагноз был подтвержден при пересмотре готовых гистологических препаратов.

Таблица 4 - Результаты гистологического исследования первичной опухоли в контрольной группе

Тип опухоли	Группа IIВ (N=97)	
	Абс.	%
Эпителиоидный тип	65	67
Веретенноклеточный тип	15	15,5
Смешанный тип	12	12,4
Невоклеточный тип	5	5,1

Распределение больных по распространенности опухолевого процесса в соответствии с классификацией TNM 7-го пересмотра представлено в таблице 5.

Таблица 5 – Распространенность опухолевого процесса у лиц контрольной группы в соответствии с классификацией TNM

	Абс.	%
Число больных	97	100
Стадия		
III	97	100
T		
Tx	12	12,3
T0	15	15,5
T1	4	4,1
T2a	5	3,1
T3a	13	7,2
T4a	48	9,3
N		
N1	40	41,2
N2	32	33
N3	25	25,8
M		
M0	97	100

После обследования в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина пациенты обеих групп в зависимости от вида лечения были разделены на 5 групп, которые представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Распределение больных контрольной и основной групп в зависимости от вида лечения

Вид лечения	Контрольная группа (N=97)		Основная группа (N=99)	
	Абс.	%	Абс.	%
Хирургическое	39	40,2	48	48,5
Хирургическое +лучевая терапия	3	3,1	1	1
Хирургическое +лекарственное	47	48,5	29	29,3
Динамическое наблюдение	8	8,2	20	20,2
Комплексное	-	-	1	1

При анализе имеющихся данных установлено, что течение заболевания в обеих группах практически одинаково, и после комплексного обследования и получения морфологической верификации диагноза назначается сходное лечение, следовательно, нет необходимости в

длительном поиске первичного очага, в результате чего удлиняется продолжительность диагностического этапа и откладывается назначение лечебных мероприятий.

При изучении отдаленных результатов получены следующие данные. Выживаемость пациентов с меланомой без выявленного первичного очага представлена на рисунке 2.

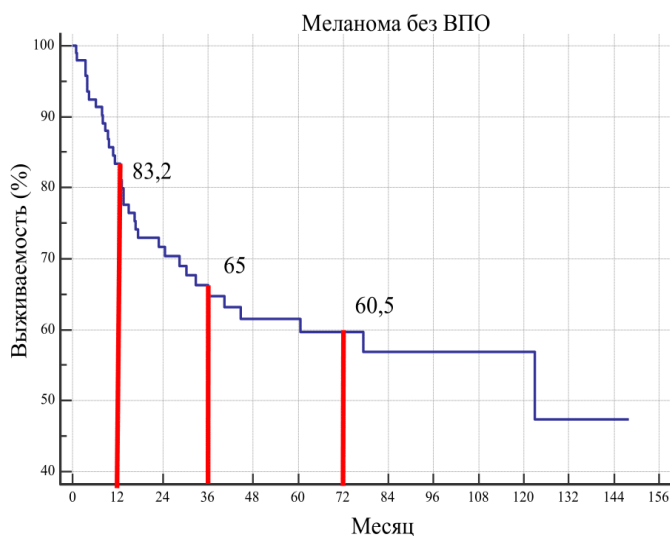


Рисунок 2 – Выживаемость пациентов с меланомой без выявленного первичного очага

При анализе общей выживаемости группы пациентов с диагнозом «меланома без выявленного первичного очага (ВПО)» (n=99) оказалось, что в первый год выживаемость составила 83,2%, 3-летняя выживаемость составила 65 %, 5-летняя выживаемость - 60,5%. Общая медиана выживаемости данной группы составила 122,2 месяца. Выживаемость пациентов в зависимости от пола представлена в рисунке 3.

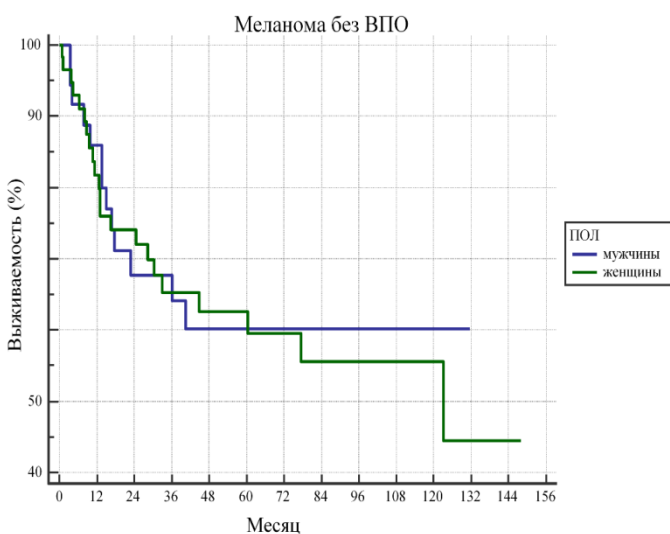


Рисунок 3 – Выживаемость пациентов меланомой без выявленного первичного очага в зависимости от пола

В первый год выживаемость у мужчин составила 80%, у женщин 76,3%. 3-летняя выживаемость у женщин составила 65%, у мужчин- 64,6%. 5-летняя выживаемость у женщин составила 59,9%, у мужчин-60%. Медиана выживаемости у мужчин не была достигнута в течение 132 месяцев, а у женщин медиана выживаемости составила 123 месяца (Рисунок 4).

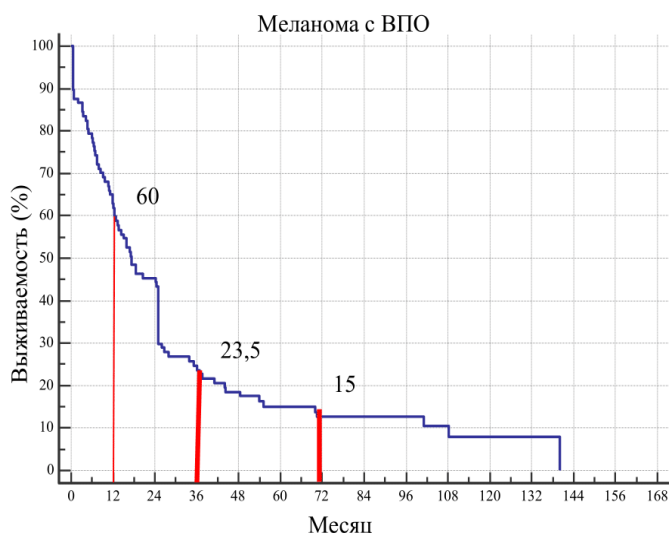


Рисунок 4 – Выживаемость пациентов меланомой с выявленной первичной опухолью

При анализе общей выживаемости группы пациентов контрольной группы с выявленной первичной опухолью (n=97) оказалось, что в первый год выживаемость составила 60%, 3-летняя - 23,5 %, 5-летняя выживаемость составила 15%. Общая медиана выживаемости данной группы составила 17,3 месяца (Рисунок 5).

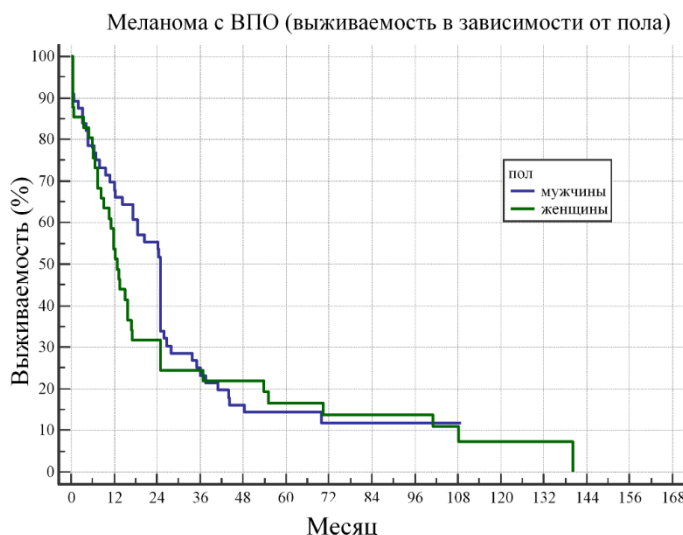


Рисунок 5 – Выживаемость больных меланомой с выявленной первичной опухолью в зависимости от пола

В первый год выживаемость у мужчин была 73%, у женщин - 51%. Трехлетняя выживаемость у женщин - 21,6%, у мужчин - 21%. Пятилетняя выживаемость у женщин - 16,4% у мужчин - 14,5%. Медиана выживаемости у мужчин составила 25 месяцев, а у женщин - 12,8 месяца.

При сравнении основной и контрольной групп отмечено, что в основной группе общая выживаемость и медиана выживаемости выше, чем во контрольной группе. При сравнении выживаемости среди полов в основной группе не было отмечено существенной разницы, но у мужской группы не была достигнута медиана выживаемости (возможно, что это связано с малой выборкой). При сравнении среди полов в контрольной группе также отмечена небольшая разница в выживаемости, однако медиана у мужчин больше, чем у женщин.

Полученные результаты показывают, что пациенты с метастазами меланомы без ВПО имеют лучший прогноз в сравнении с больными, у которых первичная опухоль была выявлена.

Изучение костного мозга у больных метастатической меланомой

В исследование были включены 67 пациентов меланомой с выявленным первичным очагом, которым было выполнено иммунологическое и морфологическое исследование костного мозга с целью изучения частоты обнаружения диссеминированных опухолевых клеток (ДОК).

Распределение по полу и возрасту представлено на диаграммах №2 и 3 соответственно. Всего в исследовании приняли участие 34 (50,7%) больных мужского пола и 33 (49,3%) больных женского пола. Средний возраст пациентов составил: $52,7 \pm 1,6$ года. В возрасте от 20-39 лет наблюдалось 15 (22,4%) больных, в возрасте 40-59 лет - 31 (46,3%) больной и в интервале 60-79 лет - 21 (31,3%) больной.

Всем пациентам в результате стандартного комплексного обследования в условиях НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина был установлен диагноз: «меланома с метастазами в периферических лимфатических узлах». Локализация первичного очага у 7 (10,2%) больных была в области головы и шеи, у 9 (13,4%) пациентов - в области верхних конечностей, у 20 (29,9%) больных опухоль локализовалась в области нижних конечностей и в 31 (46,3%) случае – в области туловища.

В исследовании преобладали больные со стадиями II (n=35, 52,2%), I (n=18, 26,9%). III стадия установлена в 8 (11,9%) случаях, а у 3 (4,5%) больных отмечена IV стадия опухолевого процесса (Таблица 7). В 3 случаях точная стадия не установлена ввиду отсутствия данных о первичной опухоли (Тх). Размеры первичного очага в большинстве случаев соответствовали Т3 (35,8%) и Т2 (25,4%), стадия Т1 наблюдалась у 8 (11,9%) больных, Т4 – у 15 (22,4%) лиц. В 80,6% случаев регионарные лимфатические узлы были интактны. Индекс N1 был у 5 (7,5%)

больных. В равном числе случаев установлена распространенность N2 и N3: 3 (4,5%). Nx – 3,0%. Метастатическое поражение отдаленных органов (M1) выявлено в двух случаях (2,9%).

Таблица 7 – Распределение больных меланомой по распространенности опухолевого процесса в соответствии с классификацией TNM и по стадиям

	Абс.	%
Всего	67	100
Стадия		
I	18	26,9
II	35	52,2
III	8	11,9
IV	3	4,5
Первичная опухоль (T)		
Tx	3	4,5
T1	8	11,9
T2	17	25,4
T3	24	35,8
T4	15	22,4
Регионарные метастазы (N)		
Nx	2	3,0
N0	54	80,6
N1	5	7,5
N2	3	4,5
N3	3	4,5
Отдаленные метастазы (M)		
M0	65	97,1
M1	2	2,9

До визита в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина 73,1% (n=51) больным меланомой проведено хирургическое лечение в объеме иссечения первичного очага. Операция в комбинации с иммунотерапией проведена 13,4% (n=9) пациентам. Одному больному после операции проводилась таргетная терапия.

После обследования в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина установлено, что у 33 (49,2 %) больных имело место прогрессирование меланомы, выявлены лимфогенные и гематогенные метастазы. Выполнено рестадирирование согласно распространенности опухолевого процесса на

момент пункции костного мозга: распространенность опухолевого процесса соответствовала следующим стадиям: IA- 7,4%, IB – 7,4%, IIA-C –19,4%, IIIA-C – 27.0%, IV – 38,8%.

Оперативному лечению подверглись 18 больных (26.8%). Из них в 12 (17,9 %) случаях операция была дополнена лекарственной терапией. Только лекарственное лечение проводилось 33 (49,3%) больным. В остальных случаях было рекомендовано наблюдение.

Всего лекарственное лечение получили 45 пациентов. Таргетная терапия проводилась 19 (42,2 %) больным, 25 больных (55,5%) получили иммунотерапию, таргетная терапия + иммунотерапия была проведена 1 (2,2%) пациенту.

В схемах лекарственной терапии использованы следующие группы лекарственных препаратов: ингибиторы контрольных точек иммунного ответа и ингибиторы тирозинкиназы. В монотерапии использовались: Ниволумаб, Пембролизумаб, Вемурафениб, Дабрафениб. Также использованы комбинации препаратов: Вемурафениб + Кобиметиниб, Дабрафениб + Траметиниб, Ипилимумаб + Ниволумаб, Ниволумаб + Дабрафениб.

Ввиду того, что в клинические рекомендации был внесен дополнительный метод диагностики распространенности рака (трепанобиопсия костного мозга, пункция) при солидных опухолях (раке молочной железы, раке желудка) было выполнено иммунологическое и морфологическое исследование костного мозга у больных меланомой, учитывая ее высокий потенциал гематогенного метастазирования. На основании экспрессии НМВ-45 и отсутствии экспрессии панлейкоцитарного антигена CD45 в костном мозге больных меланомой диссеминированные опухолевые клетки выявлены в 62,7% случаев (n=42). Диссеминированные опухолевые клетки характеризовались низкими параметрами светорассеяния. На рисунке 6 представлена цитограмма, на которой в координатах CD45 (ось абсцисс) и НМВ-45 (ось Y) в гейте В обнаружены клетки, экспрессирующие маркер меланомы НМВ-45 и не экспрессирующие маркер CD45.

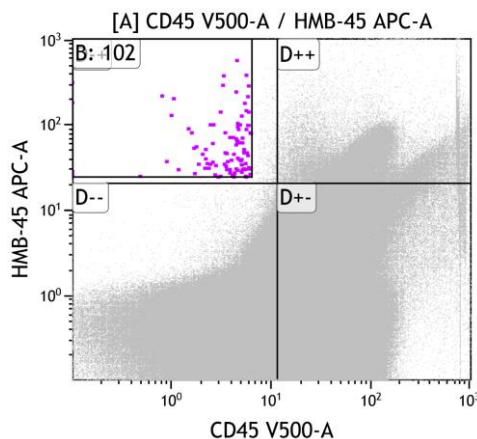


Рисунок 6 – Диссеминированные опухолевые клетки меланомы в костном мозге (гейт В)

Связи частоты поражения костного мозга с полом не выявлено, тогда как с возрастом обнаружена достоверная взаимосвязь. Установлено, что частота ДОК позитивных случаев выше в группе пациентов молодого возраста (20 - 39 лет): 93,3%, n=14, p=0,02.

При изучении поражения костного мозга в зависимости от локализации первичного очага установлено, что частота выявления ДОК выше, если опухоли находятся в области верхних конечностей или в области туловища: 100% и 77,8% ,соответственно, p=0,024 (Таблица 8). При локализации опухоли в области головы и шеи этот показатель составил 25%, а в области нижних конечностей - 50%.

Таблица 8 – Частота выявления диссеминированных опухолевых клеток в костном мозге в зависимости от локализации первичного очага

			ДОК		Всего
			отсутствуют	присутствуют	
	Кожа головы шеи	Абс.	3	1	4
		%	75,0%	25,0%	100,0%
	Кожа верхних конечностей	Абс.	0	5	5
		%	0,0%	100,0%	100,0%
	Кожа нижних конечностей	Абс.	6	6	12
		%	50,0%	50,0%	100,0%
	Кожа туловища	Абс.	4	14	18
		%	22,2%	77,8%	100,0%
Всего		Абс.	13	26	39
		%	33,3%	66,7%	100,0%

Изучена частота обнаружения диссеминированных опухолевых клеток в костном мозге в зависимости от стадии опухолевого процесса (Таблица 9). Показано, что ДОК в костном мозге выявлялись на всех стадиях меланомы.

Таблица 9 – Частота выявления диссеминированных опухолевых клеток в костном мозге в зависимости от стадии

Стадия			ДОК		Всего
			Отсутствуют	Присутствуют	
IA	Абс.	3	2	5	
	%	60,0%	40,0%	100,0%	
IB	Абс.	1	4	5	
	%	20,0%	80,0%	100,0%	
IIA	Абс.	0	5	5	
	%	0,0%	100,0%	100,0%	
IIB	Абс.	2	2	4	
	%	50,0%	50,0%	100,0%	

ПС	Абс.	0	4	4
	%	0,0%	100,0%	100,0%
ША	Абс.	0	1	1
	%	0,0%	100,0%	100,0%
ШВ	Абс.	1	3	4
	%	25,0%	75,0%	100,0%
ШС	Абс.	9	4	13
	%	69,2%	30,8%	100,0%
IV	Абс.	9	17	26
	%	34,6%	65,4%	100,0%
Всего	Абс.	25	42	67
	%	37,3%	62,7%	100,0%

На основании представленных данных установлено, что при I и II стадиях процент выявления ДОК составляет 60,0% (6\10) и 84,6%(11\13) соответственно, при III и IV стадии - 44,4% (8\18) и 65,4% (17\26) (Рисунок 7). Вместе с тем статистически значимого различия не достигнуто. Тем не менее, на это стоит обратить внимание, поскольку частота поражения костного мозга при стадии I-II меланомы довольно высокая. Такое раннее событие гематогенной диссеминации, как мы предполагаем, может свидетельствовать о более агрессивном злокачественном потенциале меланомы в фазе начального роста, что, по мнению других исследователей, может быть продиктовано особой популяцией стволовых опухолевых клеток. Они способны к стимулированию роста и метастазирования опухолей, тогда как большинство опухолевых клеток имеют ограниченный пролиферативный потенциал.

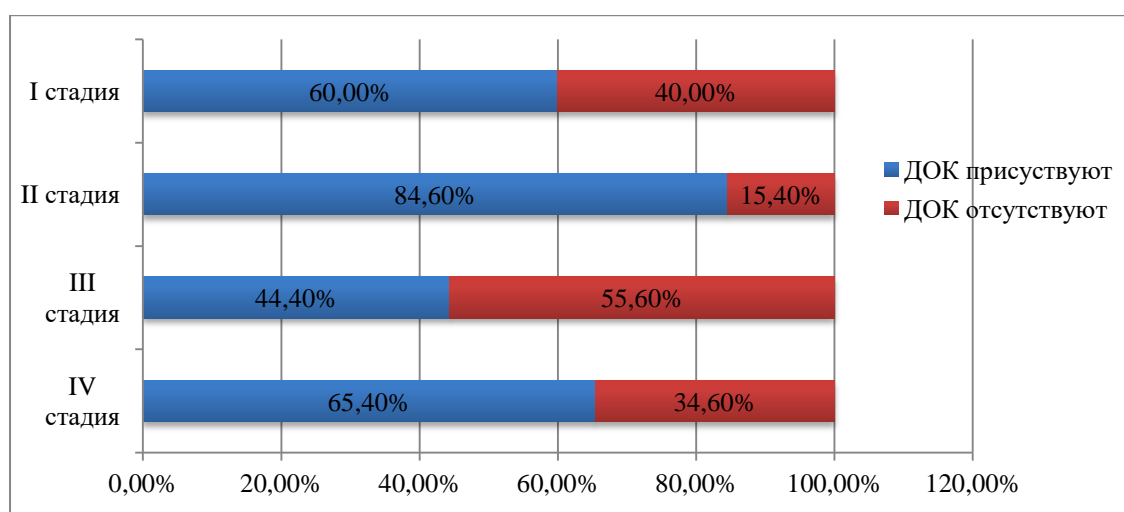


Рисунок 7 – Частота поражения костного мозга при ранних и распространенных стадиях меланомы

Поскольку у части больных на момент пункции костного мозга было установлено прогрессирование меланомы, то факт поражения костного мозга в таких случаях вполне ожидаем, и мы видим, что при IV стадии оно выявлено у 65,4% больных. Вместе с тем следует принять во внимание следующее. Во-первых, мы не располагаем данными о состоянии костного мозга на момент первичной постановки диагноза у этих больных. Во-вторых, хорошо известен факт персистенции ДОК в костном мозге на ранних стадиях, что показано целым рядом злокачественных опухолей. Также известно, что они имеют биологические характеристики, отличающие их от первичной опухоли, могут поступать в циркуляторное русло и метастатически поражать отдаленные органы.

Известно, что частота мутаций в гене BRAF при меланоме кожи, по данным разных исследователей, варьирует от 50% до 80%. Так, во всероссийском молекулярно-эпидемиологическом исследовании меланомы соматические мутации BRAF были выявлены в 64% первичных опухолей. При этом с наибольшей распространенностью мутации BRAF отмечены среди пациентов молодого и среднего возраста.

В 49 случаях мы располагали данными BRAF-статуса пациентов. Интересным представлялось сравнить частоту выявления ДОК у таких больных. При анализе частоты выявления ДОК в костном мозге в зависимости от BRAF статуса значимых различий не выявлено. При отсутствии или наличии мутаций целевого гена процент ДОК позитивных случаев был в равной степени высоким (Таблица 10). При этом следует отметить, что BRAF позитивные случаи характеризовались более высокой частотой поражения костного мозга. (78,6 % против 61,9 %).

Таблица 10 – Частота выявления ДОК в костном мозге в зависимости от статуса BRAF

			ДОК		Всего
			Отсутствуют	Присутствуют	
BRAF	нет мутации	Абс.	8	13	21
		%	38,1%	61,9%	100,0%
	есть мутация	Абс.	6	22	28
		%	21,4%	78,6%	100,0%
P=0.203		Абс.	14	35	49
		%	28,6%	71,4%	100,0%

Таким образом, по результатам проведенного анализа взаимосвязи ДОК статуса с клинико-морфологическими характеристиками опухоли установлено, что поражение костного мозга при меланоме выявляется в 62,7% случаев, при этом даже у больных с локализованным

опухолевым процессом. Более того, необходимо отметить, что в молодом возрасте, при малых размерах опухоли, когда клинически еще не наблюдается лимфогенного метастазирования, отмечается гематогенная диссеминация. Последнее, возможно, отражает агрессивность опухоли именно на начальных этапах ее развития. Интересным является факт взаимосвязи частоты поражения костного мозга и локализации первичного очага, установленный в данном исследовании. В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что исследование костного мозга у больных меланомой является важным этапом в изучении процесса метастазирования меланомы и в понимании истоков ее агрессивных свойств.

Резюмируя, можно отметить, что определение ДОК в костном мозге может иметь важное прогностическое значение и данный метод следует рассмотреть, как дополнительный инструмент для уточнения распространенности опухолевого процесса, что в конечном итоге может влиять на лечебную тактику.

Детальный анализ клинических наблюдений показывает насколько важен современный подход к исследованию проблемы метастазов меланомы без выявленного первичного очага с учетом патогенеза, особенностей развития и клинического течения, знания клинико-морфологических характеристик, анализа эффективности хирургического и лекарственного лечения. Такая детализация обеспечивает понимание биологической сущности злокачественной опухоли и способствует адекватному выбору тактики лечения.

Как показал анализ, изученные группы сопоставимы, поэтому данные о больных с установленной первичной опухолью могут быть экстраполированы на пациентов с метастазами меланомы в лимфатических узлах без выявленного первичного очага.

С одной стороны, при метастазах меланомы без выявленного первичного очага логично предположить агрессивное течение болезни, поскольку первым проявлением заболевания является метастатическое поражение, однако нами получены данные, что общая выживаемость и медиана выживаемости в группе пациентов с метастазами меланомы в лимфатических узлах без выявленного первичного очага выше, чем при метастазах меланомы с установленной первичной опухолью. Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что первичный очаг у группы пациентов с метастазами меланомы без ВПО был подвергнут воздействию ряда механизмов иммунного ответа организма вплоть до его полной супрессии, в то время как на метастатические очаги такое воздействие по каким-то причинам не было осуществлено. Гипотетическими причинами отсутствия первичного очага могут являться: ингибирование роста первичного очага, регресс первичного очага, преимущественный рост метастазов по сравнению с первичным очагом.

Одним из самых перспективных современных направлений в диагностике является исследование молекулярно-генетических особенностей опухоли, которые позволили бы персонализировать терапию исходя из индивидуальных особенностей каждой опухоли. 67 больным выполнено морфологическое и иммунологическое исследование костного мозга. Методом проточной цитометрии в костном мозге больных меланомой диссеминированные опухолевые клетки выявлены в 62,7% случаев. Установлено, что на начальных стадиях заболевания их процент довольно высок, также, как и при небольших размерах опухоли. Этот факт может помочь объяснить клинические проявления патологического процесса в виде метастазов меланомы без выявленного первичного очага, когда первичную опухоль не удаётся выявить, возможно, из-за микроскопических её размеров, в то время как она имеет высокий метастатический потенциал. Отмечено, что в молодом возрасте частота обнаружения диссеминированных опухолевых клеток в костном мозге была выше. Можно предположить, что этим обусловлено более агрессивное течение опухолевого процесса у молодых. Изложенные факты представляются интересными и требуют дальнейшего изучения с целью оценки прогностической значимости диссеминированных опухолевых клеток при меланоме.

Выводы

1. Клиническое течение метастазов меланомы в лимфатических узлах без выявленного первичного очага не отличается от течения опухолевого процесса у больных с выявленной первичной опухолью и в первую очередь зависит от морфологических характеристик и распространенности опухоли.

2. Общая выживаемость группы пациентов с диагнозом «метастазы меланомы в лимфатических узлах без выявленного первичного очага» (n=99) составила в первый год 83,2%, против 60% при меланоме с выявленной первичной опухолью (n=97); 3-летняя выживаемость была 65 %, тогда как в контрольной группе - 23,5%, 5-летняя выживаемость соответственно - 60,5% и - 15%. Общая медиана выживаемости в данных группах составила 122,2 месяца и 17,3 месяца соответственно, $p=0,087$.

3. Иммуногистохимическое исследование тканей опухоли было выполнено 24 пациентам, в результате которого Melan-A выявлен в 24(100%), protein S100 - в 23(95,8%), Melanosoma (HMB45) - 20(83,3%), Tyrosinasa 22(91,7%), MITF-M - 24(100%), Vimentin- 23(95,8%), V600E - 7(70%), что позволило дифференцировать меланому от опухолей иной морфологии.

4. На основании экспрессии HMB-45 и отсутствия экспрессии панлейкоцитарного антигена CD45 в костном мозге больных меланомой диссеминированные опухолевые клетки

выявлены в 62,7% случаев (n=42). Клетки характеризовались низкими параметрами светорассеяния. Установлено, что частота позитивных случаев диссеминированных опухолевых клеток выше в группе пациентов молодого возраста (20 - 39 лет): 93,3%, n=14, чем в возрасте от 40-59 лет: 54,8% и в возрастной группе от 60-79 лет: 52,4%, p=0,02.

5 Частота выявления позитивных случаев диссеминированных опухолевых клеток выше на начальных стадиях меланомы: процент диссеминированных опухолевых клеток при I-II стадиях составил 60,0% и 84,6%, тогда как при III – IV стадиях составил 44,4% и 65,4%, соответственно, p=0,039.

Практические рекомендации

1. Усовершенствование алгоритма дифференциальной диагностики метастазов меланомы без выявленного первичного очага в лимфоузлах возможно путем включения в диагностический алгоритм, помимо рекомендованных в настоящее время методик обследования, морфологическое и иммуногистохимическое исследование костного мозга с целью изучения диссеминированных опухолевых клеток (Рисунок 16).

2. Для повышения точности дифференциальной диагностики при метастазах злокачественной опухоли в лимфатических узлах без выявленного первичного очага целесообразно включение в диагностический алгоритм иммуногистохимического и молекулярно-генетического исследования.

3. Поиск первичного очага не должен являться самоцелью, так как факт его выявления не влияет на результаты лечения. После оценки общего состояния пациента, получения морфологических и иммуногистохимических характеристик опухоли, оценки распространенности опухолевого поражения целесообразно начинать лечение.

Перспективы дальнейшей разработки темы диссертации

Диагностика и выбор эффективного вида лечения у пациентов с метастазами меланомы в лимфатических узлах без выявленного первичного очага требует дальнейшего изучения и проработки. Полученные результаты позволяют определить перспективы дальнейшей разработки темы:

- продолжить дальнейшее изучение оценки прогностической значимости диссеминированных опухолевых клеток при меланоме.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Комаров, И.Г., Метастазы плоскоклеточного рака в лимфатических узлах шеи без выявленного первичного очага / И.Г. Комаров, Д.А. Карселадзе, А.И. Сендерович, А.И. Карселадзе, К.В. Смирнова, **М.А. Крыловецкая** // Опухоли головы и шеи. – 2018. – Т. 8, № 1. – С. 38–47.
2. **Крыловецкая, М.А.** Роль фиброскопии верхних дыхательных путей у пациентов с метастазами плоскоклеточного рака в лимфатических узлах шеи без выявленного первичного очага / **М.А. Крыловецкая**, И.Г. Комаров, А.Ю. Концевая, О.А. Малихова // Опухоли головы и шеи. – 2020. – Т. 10, № 4. – С.10-15.
3. **Крыловецкая, М.А.** Диагностика и лечение метастазов меланомы без выявленного первичного очага / М.А. Крыловецкая, И.Г. Комаров, Д.А. Карселадзе // Современная Онкология. – 2018. – Т. 20, № 3. – С. 30–34.
4. Метастазы меланомы в лимфатических узлах без выявленного первичного очага/**Крыловецкая М.А.**, Комаров И.Г., Комаров М.И., Гусарова О.А., Малихова О.А. // *Медицинский алфавит*. – 2023. – Т. 10, № 10. – С.30-35
5. **Крыловецкая, М.А.** Иммунологическая детекция и клиническое значение поражения костного мозга при меланоме кожи / М.А. Крыловецкая С.В., Чулкова И.Г., Маркина, Чернышева О.А., И.Г. Комаров, О.П. Колбацкая, Н.А. Купрышина, А.В. Логачев, И.Н. Михайлова, Л.В. Демидов, Н.Н. Тупицын // Современная Онкология. – 2023. – Т. 25, № 1. – С.28-34.