

На правах рукописи

ГОРЯИНОВА АЛЛА ЮРЬЕВНА

**ФАКТОРЫ РИСКА ГИПЕРТРОФИИ ЭНДОМЕТРИЯ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ
ТАМОКСИФЕНОМ У ПАЦИЕНТОК С ГОРМОНОЗАВИСИМЫМ РАКОМ
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2024 г.

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор Стилиди Иван Сократович)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Мещеряков Андрей Альбертович

Официальные оппоненты:

Хохлова Светлана Викторовна, доктор медицинских наук, заведующий онкологическим отделением противоопухолевой лекарственной терапии института онкогинекологии и маммологии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Давыдова Ирина Юрьевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела онкохирургии тазового дна Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы».

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «27» июня 2024 года в 13-00 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 «.....» 2024 года

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Кадагидзе Заира Григорьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы и степень ее разработанности

Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее часто встречающейся онкопатологией как в мире, так и в России (Каприн А.Д. 2020, Клинические рекомендации «Рак молочной железы» 2021, Siegel R.L. 2021). От 70% до 80% всего РМЖ представляют гормонозависимые формы заболевания (Протасова А.Э. 2018, Aggelis V. 2019, Krauss K. 2020, Kubo M., 2020, Zhang H. 2021). Тамоксифен – широко применяемый препарат для адъювантной терапии гормонозависимого РМЖ, вызывает гиперплазию эндометрия, полипы, миому матки, аденомиоз и другие доброкачественные изменения органов репродуктивной системы. Описанным канцерогенным эффектом тамоксифена является развитие вторичных злокачественных новообразований, таких как рак тела матки и саркома матки (Денисов М.С. 2015, Коваленко Е.И. 2018, Полянских Л.С. 2019, Протасова А.Э. 2019, Белицкий Г.А. 2020, Tamoxifen. Meyler's Side Effects of Drugs 2016, Bezerra L.S. 2018, Ignatov A. 2020, National Comprehensive Cancer Network 2021). Тамоксифен увеличивает риск развития рака эндометрия (РЭ) примерно в 2-7 раз (Emons G. 2020, Ignatov A. 2020, Ferriss J.S. 2021, Wijayabahu A.T. 2020). Существенному увеличению риска развития РЭ более, чем в два раза с 1,5 до 3,2% способствует увеличение длительности терапии тамоксифеном по сравнению со стандартными 5 годами его приема (Fleming C.A. 2018). Механизм воздействия тамоксифена на эндометрий на сегодняшний день до конца не изучен.

На фоне приема тамоксифена как у больных РМЖ, так и здоровых женщин репродуктивного возраста также описан эффект увеличения продукции эстрадиола яичниками (Цырлина Е.В. 2016). Однако, по-прежнему не выявлена группа больных с гиперстимуляцией, которая проявляется не у всех пациенток, что, вероятно, связано в том числе с трансформацией продуктов тамоксифена и самих эстрогенов системой цитохрома P450 (Rodriguez A.C. 2006, Hertz D.L. 2012, Cronin-Fenton D.P. 2018).

Цитохром P450 (CYP-450), а именно CYP2D6, является частью ферментной системы CYP-450 и отвечает за метаболизм тамоксифена до его наиболее активной формы – эндоксифена (Любченко Л.Н. 2017). CYP2D6 является одним из самых высокополиморфных изоферментов (Клиническая фармакогенетика 2007, Hoskins J.M. 2009, Hertz D.L. 2012, Cronin-Fenton D.P. 2018). В литературе описано около 150 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) и 100 аллелей, включая ins/del варианты, меняющие аминокислотную последовательность белка (Mulder et al. 2021). Генетический полиморфизм ферментов биотрансформации является одним из наиболее важных факторов, ответственных за межиндивидуальную и межэтническую

изменчивость лекарственного ответа (Гуляева Л.Ф. 2000, Hoskins J.M. 2009, Dorji P.W. 2019). Имеется много сообщений о целесообразности фармакогенетического тестирования больных, получающих гормонотерапию по поводу РМЖ, с целью прогнозирования как эффективности тамоксифена, так и его побочного действия (Stearns V. 2003, Goetz M.P. 2004, Jin Y. 2005, Кнох S.K. 2007, Goetz M.P. 2018). Хотя ни в Руководстве по РМЖ США от 2021 г. (National Comprehensive Cancer Network 2021), ни в Клинических рекомендациях МЗ РФ (Клинические рекомендации «РМЖ» МЗ РФ 2021) не рекомендуется тестирование генотипа CYP2D6 для пациентов, получающих тамоксифен, но в первом Руководстве на стр. 54 имеется предупреждение об осторожности использования ингибиторов CYP2D6 при лечении тамоксифеном (National Comprehensive Cancer Network 2021). Вместе с тем, там же имеется фраза о том, что проведение фармакогенетического тестирования для пациентов, которым планируется терапия тамоксифеном, обсуждается. Это свидетельствует об определенном значении CYP2D6 в лечении РМЖ тамоксифеном, однако роль фармакогенетического тестирования с точки зрения прогнозирования нежелательных явлений гормонотерапии не определена.

В настоящее время отсутствуют четкие рекомендации по гинекологическому скринингу пациентов с РМЖ, принимающих тамоксифен, что зачастую приводит к неуместным исследованиям (Клинические рекомендации «Рак молочной железы», 2021, Smith R.A. 2015, National Comprehensive Cancer Network 2022). Последовательность обследования, лечения и тактика дальнейшей гормонотерапии РМЖ при развитии увеличения толщины эндометрия на фоне эндокринотерапии также не определена. Нет единого мнения о том, когда и как следует изменять или даже прекращать прием тамоксифена при формировании патологии эндометрия. Необходимость поиска дополнительных факторов риска развития осложнений со стороны женской репродуктивной системы для их профилактики и ранней диагностики, а также возможной персонализации эндокринотерапии РМЖ обуславливают актуальность данной работы.

Цель исследования

Оптимизация клинической диагностики гипертрофических процессов эндометрия на фоне лечения тамоксифеном гормонозависимого РМЖ.

Задачи исследования

1. Оценить состояние ранней диагностики патологических изменений эндометрия на фоне терапии тамоксифеном у больных РМЖ.
2. Исследовать влияние тамоксифена на овариальный стероидогенез у больных РМЖ.

3. Изучить корреляцию овариального стероидогенеза и патологических процессов эндометрия на фоне эндокринотерапии тамоксифеном.

4. Изучить влияние отдельных генетических полиморфизмов *CYP2D6* на возникновение патологических состояний эндометрия на фоне терапии тамоксифеном.

5. Определить алгоритм диагностики гипертрофических процессов эндометрия, основываясь на выявлении факторов риска.

Методология и методы исследования

Проведено ретроспективно – проспективное когортное исследование. В ретроспективном исследовании представлен анализ данных электронных амбулаторных карт 5331 больной с гормонозависимым РМЖ, получавших лечение тамоксифеном в период с 2011 по 2018 годы в Клиническом онкологическом диспансере г. Краснодара.

В процессе набора проспективного материала 187 больным проводилось исследование уровней эстрадиола и фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) методом хемилюминесцентного иммуноанализа на микрочастицах в срок 3, 6, 9 месяцев от начала терапии тамоксифеном в сочетании с ультразвуковым исследованием толщины эндометрия. Молекулярно-генетическая диагностика (исследование генотипов *CYP2D6* по аллелям *3, *4, *6) проводилась у 145 больных путем исследования ДНК, выделенной из образцов эпителия слизистой полости рта, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Статистический анализ и визуализация полученных данных проведены с использованием среды для статистических вычислений R 4.2.2 (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия).

Научная новизна

Впервые на большом клиническом материале проведен ретроспективный клинико-эпидемиологический анализ распространенности и факторов риска развития патологии эндометрия на фоне терапии тамоксифеном, дана оценка тактике эндокринотерапии гормонозависимого РМЖ с точки зрения безопасности применения тамоксифена при развитии гипертрофии эндометрия. В проспективном исследовании проанализирована взаимосвязь гипертрофических процессов эндометрия с полиморфизмами гена цитохрома *CYP2D6* и овариальным стероидогенезом на фоне эндокринотерапии тамоксифеном по поводу РМЖ.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты настоящего исследования позволили определить эпидемиологию патологических процессов эндометрия на фоне терапии тамоксифеном у больных РМЖ,

проанализировать текущую диагностическую и клиническую практику, подходы к планированию эндокринотерапии в зависимости от развития патологии эндометрия на фоне приема тамоксифена, оценить значимость фармакогенетического тестирования на носительство отдельных аллельных вариантов гена цитохрома CYP2D6, выявить дополнительные биохимические и молекулярно-генетические факторы риска развития патологии эндометрия при применении антиэстрогенной терапии. Полученные данные могут быть использованы в практической деятельности врачей онкологов и гинекологов для персонализации эндокринотерапии РМЖ, совершенствования программ прогнозирования и лечения патологии эндометрия на фоне терапии тамоксифеном, оптимизации алгоритма наблюдения за данной группой больных, повышения приверженности больных лечению.

Личный вклад

Проведен тщательный анализ научной литературы, изучение и разработка проблемы, на основании чего были сформулированы цель и задачи исследования. Разработан дизайн исследования, осуществлен сбор и статистический анализ архивных данных, реализован проспективный раздел работы путем осуществления сбора коллекции образцов биологического материала для молекулярно-генетического исследования, мониторинга биохимических, инструментальных данных обследований больных в процессе клинической деятельности автора. Выполнена статистическая обработка, анализ и оценка результатов всех исследований, указанных в диссертации. Полученные и проанализированные результаты оформлены в виде публикаций.

Соответствие паспорту специальности

Диссертация соответствует паспорту специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, направление исследований пункты: п.1. Осуществление профилактики возникновения опухолей на основе изучения факторов внешней и внутренней среды организма; п. 2. Исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.); п. 3. Разработка и совершенствование программ скрининга и ранней диагностики онкологических заболеваний.

Положения, выносимые на защиту

1. Гипертрофия эндометрия на фоне приема тамоксифена развивается чаще у больных до 60 лет и служит причиной дополнительных диагностических инвазивных манипуляций и изменений режима гормонотерапии, но не ассоциируется с развитием РЭ.

2. На фоне терапии тамоксифеном по поводу РМЖ отмечается стимуляция овариального стероидогенеза, что является фактором риска развития гипертрофии эндометрия.

3. Установленные частоты аллелей *3, *4, *6 гена *CYP2D6*, близкие к опубликованным в литературе для популяций европейского происхождения, позволяют уточнить биологический механизм влияния тамоксифена на эндометрий.

4. У больных с аллельными вариантами гена *CYP2D6*, детерминирующими нормальную функцию фермента, отмечается увеличение риска развития гипертрофии эндометрия на фоне терапии тамоксифеном с прямой корреляцией между уровнем эстрадиола и толщиной эндометрия.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационной работы использованы в диагностической и лечебной деятельности поликлинического отделения ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер №1» министерства здравоохранения Краснодарского края при планировании тактики адъювантной гормонотерапии РМЖ (акт о внедрении результатов диссертационной работы от 22.11.2023г.): разработан алгоритм рационального обследования больных с патологией эндометрия, принимающих тамоксифен в качестве эндокринотерапии РМЖ, получены новые экспериментальные данные о патогенезе гипертрофии эндометрия и состоянии функции яичников на фоне терапии тамоксифеном.

Апробация результатов

Апробация диссертации состоялась на совместной научной конференции отделения онкогинекологии, отделения противоопухолевой лекарственной терапии №1 отдела лекарственного лечения НИИ клинической онкологии им. академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова, отдела лучевых методов диагностики опухолей консультативно-диагностического центра ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России 15 декабря 2023 года.

Основные положения работы доложены на конференциях: Школа онкологов и радиологов, Ростов-на-Дону 12-13 ноября 2021 год; Он-лайн марафон ONLINE Весна 2022, Москва 03-05 марта 2022 год; Форум онкологов Южного Федерального округа, Сочи 19-23 октября 2023 год.

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 4 статьи в журналах, которые внесены в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных результатов исследований.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 138 страницах печатного текста и состоит из введения, шести глав, заключения, выводов и практических рекомендаций, списка литературы. Работа иллюстрирована 34 таблицами и 15 рисунками. Библиографический указатель включает 104 источника литературы, из них 39 отечественных и 65 зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В ретроспективном разделе изучены материалы электронной базы данных диспансера 5331 пациентки с гормонозависимым РМЖ, которые принимали тамоксифен по поводу различных стадий заболевания с 2011 по 2018 гг. Анализу подверглась информация электронных медицинских карт, включающая данные результатов цитологического и гистологического исследований после аспирационной биопсии или отдельного диагностического выскабливания (РДВМ), результатов ультразвукового исследования (УЗИ) матки и придатков на фоне терапии тамоксифеном, информация об изменении тактики гормонотерапии по поводу РМЖ в случае развития патологических процессов эндометрия.

В проспективном разделе исследования участвовали 187 пациенток с гормонозависимым РМЖ I–III стадий после проведенного радикального лечения, которые получали адъювантную гормонотерапию тамоксифеном 20 мг/сутки перорально в ежедневном режиме. До начала терапии по поводу РМЖ все больные прошли гинекологическое обследование с включением ультразвукового метода, патологии со стороны органов малого таза зарегистрировано не было. В контрольные точки 3, 6, 9 месяцев от начала терапии тамоксифеном определялось содержание ФСГ и эстрадиола в плазме крови, выполнялось УЗИ матки и придатков. УЗИ проводилось на ультразвуковом аппарате Toshiba Aplio 500B (Canon Toshiba, Япония) с использованием эндокавитального датчика с частотой 2–10 МГц на 5-7 день менструального цикла при сохранной менструальной функции и в любой день при достижении 3-месячного интервала наблюдения при отсутствии регулярных менструаций с обязательным измерением толщины эндометрия. При оценке толщины эндометрия, гипертрофия эндометрия диагностировалась при значениях 8 мм и более у пациенток в пременопаузе и 5 мм у пациенток в менопаузе¹. Определение уровней эстрадиола и ФСГ проводили реагентами наборов ARCHITECT FSH и ARCHITECT Estradiol (Abbott Laboratories, США) методом

¹ Министерство здравоохранения Российской Федерации. Клинические рекомендации. Гиперплазия эндометрия : год утверждения 2021. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recommend/646_1 (дата обращения: 20.02.2024).

хемилюминесцентного иммуноанализа на микрочастицах (СМИА) на иммунохимическом анализаторе ABBOTT Architect i2000SR (Abbott Laboratories, США) в соответствии с референсными значениями исследовательской лаборатории. При сохранении менструальной функции после проведенного комбинированного или комплексного лечения по поводу РМЖ взятие образцов крови проводилось на 5–7-й дни менструального цикла.

Для решения поставленных задач было произведено формирование коллекции образцов буккального (защечного) эпителия для молекулярно-генетического тестирования с целью определения аллельного варианта гена *CYP2D6*. 145 больным из 187 была проведена ПЦР диагностика в реальном времени (РВ-ПЦР) для определения трех основных аллелей гена *CYP2D6* *3, *4 и *6, детерминирующих снижение активности одноименного фермента биотрансформации тамоксифена, наиболее значимых для российской популяции. Выделение ДНК проводили с помощью фенол-хлороформной экстракции по методике Маниатис Т. (1984)². Генотипирование SNP проводилось по аллелям *CYP2D6* *3, *4, *6 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с помощью коммерческого набора реагентов для определения аллелей в гене *CYP2D6* (каталожный номер RUO-R1-N990-N3/4, ООО "ДНК-Технология-ТС", Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Для оптимизации статистической обработки данных носители аллелей *CYP2D6*, не ассоциированных со сниженной активностью фермента, составили группу, которую условно назвали «нормальные метаболизаторы» (НМ), носители нефункциональных аллелей гена *CYP2D6* в гомо- или гетерозиготном состоянии объединены в группу, которую условно назвали «слабые метаболизаторы» (СМ), группы были относительно сбалансированы по численности.

Статистический анализ данных

Статистический анализ и визуализация полученных данных проводились с использованием среды для статистических вычислений R 4.2.2 (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия). Для сравнения базовых характеристик использовались тест Манна-Уитни и точный тест Фишера для количественных и качественных переменных соответственно. Для сравнения категориальных характеристик использовался точный тест Фишера. 95% доверительный интервал (95% ДИ) для биномиальных пропорций оценивался с использованием метода Уилсона. Для сравнительного анализа количественных показателей использовались смешанные линейные модели с включением термина взаимодействия между индикатором группы и периодом наблюдения. Зависимые переменные с выраженной правосторонней асимметрией (коэффициент асимметрии для остатков модели > 2) включались в модели после \ln -трансформации (такая трансформация применялась в отношении концентрации эстрадиола).

Для сравнительного анализа бинарных показателей использовались смешанные логистические регрессионные модели с включением термина взаимодействия между индикатором группы и периодом наблюдения, в качестве размера эффекта использовалось отношение шансов (ОШ) с соответствующим 95% доверительным интервалом (95% ДИ). Мета-анализ всех периодов наблюдения проведен по модели фиксированных эффектов Мантеля-Гензеля (Mantel-Haenszel Fixed Effects model). Корреляционный анализ для количественных переменных проводили с использованием коэффициента ранговой корреляции (ρ) Спирмена с соответствующим 95% доверительным интервалом (95% ДИ). Для сравнения коэффициентов корреляции использовались линейные регрессионные модели с включением термина взаимодействия и ранговой трансформацией количественных переменных. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Диагностика патологических изменений эндометрия на фоне терапии тамоксифеном в когорте больных раком молочной железы в Краснодарском крае

Распространенность патологии эндометрия на фоне терапии тамоксифеном у больных РМЖ в рутинной клинической практике составила 9,36% из 5331 пациенток [95% ДИ: 8,61; 10,17] за 8 - летний период со средним возрастом $67,1 \pm 12,1$ лет. Ультразвуковой метод диагностики выявил патологические изменения в виде гипертрофии (увеличения толщины) эндометрия у 4,71 % среди общей когорты и у 50,3% в группе женщин с патологией эндометрия. 318 (63,7%) пациенток из 499 с патологическими процессами в эндометрии подверглись РДВМ. Отмечена высокая информативность РДВМ 75,8% [95% ДИ: 70,9; 80,7]: частота выявления морфологически верифицированной патологии составила 241 из 318 случаев. Клинически (данной категории больных не выполнялась морфологическая верификация, диагностика осуществлялась на основании ультразвуковой картины увеличения толщины эндометрия), цитологически и гистологически были выявлены различные патологические процессы эндометрия с определенной частотой и внутригрупповой разнородностью (Таблица 1). Патологические маточные кровотечения на фоне применения тамоксифена развились у 24 больных, риск развития кровотечений в когорте составил 4,81% [95% ДИ: 2,83; 6,79]. Среди пациенток с ультразвуковой патологией эндометрия карцинома диагностирована у 7 больных, что составило 0,13% из общей когорты обследованных женщин и 1,4% среди женщин с патологией эндометрия.

² Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М., 1984.

Таблица 1 – Частота патологических процессов, выявленных в эндометрии ретроспективной группы больных РМЖ

Патология эндометрия	n	Частота выявления в когорте (%)	Частота выявления среди женщин с патологией (%)
гипертрофия	251	4,7	50,3
гиперплазия	121	2,3	24,3
полипы	79	1,48	15,8
атрофия	41	0,77	8,2
карцинома	7	0,13	1,4

По данным УЗИ утолщение эндометрия до 11 и 26 мм зарегистрировано у 28,6% (2 из 7) больных с карциномой, у остальных 5 (71,4%) толщина эндометрия составляла 3,7 - 4,9 мм. Развитие карциномы эндометрия ассоциировалось с длительностью приема тамоксифена и статистически достоверно было связано с наличием патологических маточных кровотечений. Частота развития кровотечений у женщин с карциномой эндометрия была статистически значимо выше по сравнению с женщинами без данного диагноза (ОШ=18,5 [95% ДИ: 9,2; 37,6], $p < 0,001$). Медиана длительности применения тамоксифена у больных без кровотечений составила 9 (6–21) месяцев, у больных с кровотечениями – 10 (6,5–22) месяцев. Была отмечена тенденция к наличию прямой ассоциации шансов выявления карциномы эндометрия и длительности гормонотерапии ($p=0,071$), увеличение длительности применения препарата в 2 раза было ассоциировано с увеличением шансов выявления карциномы в среднем в 5,66 [95% ДИ: 2,6; 30,5] раз.

При оценке влияния возраста на частоту развития патологии эндометрия при терапии тамоксифеном, было показано, что увеличение возраста пациентки на каждый год было статистически значимо ассоциировано со снижением шансов выявления патологии в среднем в 1,02 [95% ДИ: 1,01; 1,03] раза ($p < 0,001$), возраст больной ≥ 60 лет был статистически значимо ассоциирован со снижением шансов выявления патологии эндометрия в 1,4 [95% ДИ: 1,15; 1,69] раза ($p < 0,001$).

Побочный эффект проводимого лечения в виде формирования любого вида патологии эндометрия явился основанием для изменения тактики ведения больных РМЖ в виде отмены тамоксифена (досрочного завершения адьювантной гормонотерапии) у 10,6%, перевода на ингибиторы ароматазы (ИА) 37,7% женщин, остальные 51,7% продолжили прием. Пациентки, которые продолжили прием тамоксифена, статистически значимо чаще имели гипертрофию эндометрия (69,8%) по сравнению с пациентками, которым была проведена отмена терапии (41,5%) или перевод на ИА (26,1%), ($p < 0,001$). Отмена терапии была статистически значимо

ассоциирована с выявлением карциномы ($p = 0,023$). При условии достижения больной биохимически зарегистрированной менопаузы ИА явились адекватной альтернативой тамоксифену с целью снижения негативного влияния на эндометрий и достижения принципа полноты и непрерывности адъювантной противоопухолевой терапии.

Овариальный стероидогенез и патология эндометрия на фоне адъювантной терапии тамоксифеном у больных гормонозависимым раком молочной железы

Особенности влияния тамоксифена на овариальный стероидогенез, взаимосвязь данного процесса с изменениями в эндометрии были изучены в проспективном разделе настоящего исследования, включившем 187 больных гормонозависимым РМЖ, получающих адъювантную терапию тамоксифеном. Возраст женщин варьировал от 44 до 52 лет (медиана – 47 лет), индекс массы тела (ИМТ) – от 22,8 – 30,3 кг/см² (медиана – 26,2 кг/см²). 85% (159) пациенток имели I-II, 15% (28) – III стадию рака, 49,7% имели метастазы в регионарных лимфатических узлах. В выборке преобладали пациентки со 2-й степенью злокачественности опухоли (G-2) —115 (62,2%) больных, 1-ю степень злокачественности опухоли (G-1) имели 32 (17,3%) больные. РМЖ T1-2N0M0 с 3-й степенью злокачественности опухоли (G-3) диагностирован у 37 (20%) женщин. У одной пациентки степень злокачественности опухоли не была определена - (G-x) 1 (1%).

Было показано, что у 122 (65,2%) больных менструальная функция до начала всего объема лекарственной терапии по поводу РМЖ была сохранена, у 65 (34,8%) отмечалось отсутствие менструаций на момент начала лечения. После проведенного комбинированного или комплексного лечения РМЖ в процессе адъювантной гормонотерапии менструальная функция оставалась сохранной только у 30,3% (37 из 122) больных, 69,6% (85 из 122) демонстрировали отсутствие менструаций на протяжении всего периода дальнейшего наблюдения, среди всех включенных в исследование эти цифры составили 19,8 и 80,2% соответственно. Больные с наличием менструальной функции условно были отнесены к группе пременопаузы (37), с отсутствием – к группе менопаузы (150).

При оценке сопутствующих гинекологических заболеваний было выяснено, что у 22 (11,8%) диагностированы кисты яичника. Наличие кист яичников статистически значимо увеличивало шансы развития гипертрофии эндометрия через 6 и 9 месяцев терапии тамоксифеном. В когорте пациенток в целом наличие кист было статистически значимо ассоциировано с увеличением шансов развития гипертрофии эндометрия в среднем в 7,74 [95% ДИ: 2,16; 49,5], ($p=0,002$) и в 3,57 [95% ДИ: 1,27; 12,8] раз ($p=0,021$) через 6 и 9 месяцев терапии тамоксифеном. Данные продемонстрировали общность механизмов развития кист яичников и гипертрофии эндометрия на фоне терапии тамоксифеном.

На этапе наблюдения 3 и 6 месяцев у 15% (28 из 187) больных в каждом периоде было отмечено повышение уровня эстрадиола >251 пг/мл, что соответствует верхней границе нормы для фолликулярной фазы по данным исследовательской лаборатории. На этапе наблюдения 9 месяцев превышение эстрадиола >251 пг/мл наблюдалось у 13,4% (25 из 187) больных. Все пациентки с высокими уровнями эстрадиола имели исходно сохранную менструальную функцию до начала терапии. Эффект гиперэстрогении чаще встречался среди больных в пременопаузе, однако отдельные больные в менопаузальной группе также демонстрировали высокие уровни эстрадиола, несмотря на отсутствие менструальной функции (Таблица 2).

Таблица 2 – Частота гиперэстрогении >251 пг/мл (пороговое значение для фолликулярной фазы по данным исследовательской лаборатории)

Период	Все пациентки	Пременопауза	Менопауза	p
3 месяца	28/187 (15%)	18/37 (48,6%)	10/150 (6,7%)	<0,001
6 месяцев	28/187 (15%)	16/37 (43,2%)	12/150 (8%)	<0,001
9 месяцев	25/187 (13,4%)	16/37 (43,2%)	9/150 (6%)	<0,001

На этапе наблюдения 3 и 6 месяцев у 4,8% (9 из 187) больных в каждом периоде было отмечено повышение уровня эстрадиола >649 пг/мл, что соответствует верхней границе нормы для фазы овуляции по данным исследовательской лаборатории. На этапе 9 месяцев повышение эстрадиола >649 пг/мл наблюдалось у 3,2% (6 из 187) больных (Таблица 3).

Таблица 3 – Частота гиперэстрогении >649 пг/мл (пороговое значение для фазы овуляции по данным исследовательской лаборатории)

Период	Все пациентки	Пременопауза	Менопауза	p
3 месяца	9/187 (4,8%)	6/37 (16,2%)	3/150 (2%)	0,002
6 месяцев	9/187 (4,8%)	7/37 (18,9%)	2/150 (1,3%)	<0,001
9 месяцев	6/187 (3,2%)	2/37 (5,4%)	4/150 (2,7%)	0,339

При анализе влияния гиперэстрогении на состояние эндометрия была отмечена положительная ассоциация гипертрофии эндометрия с увеличением концентрации эстрадиола выше 251 пг/мл в когорте в целом через 3 и 9 месяцев терапии тамоксифеном (p=0,004 и 0,006, соответственно). У женщин в пременопаузе ассоциация между гипертрофией эндометрия и увеличением концентрации эстрадиола выше 251 пг/мл отмечалась через 3 и 9 месяцев (p=0,056

и 0,004, соответственно), а у женщин в менопаузе статистически значимая связь была отмечена только через 3 месяца терапии ($p=0,012$) (Рисунок 1).

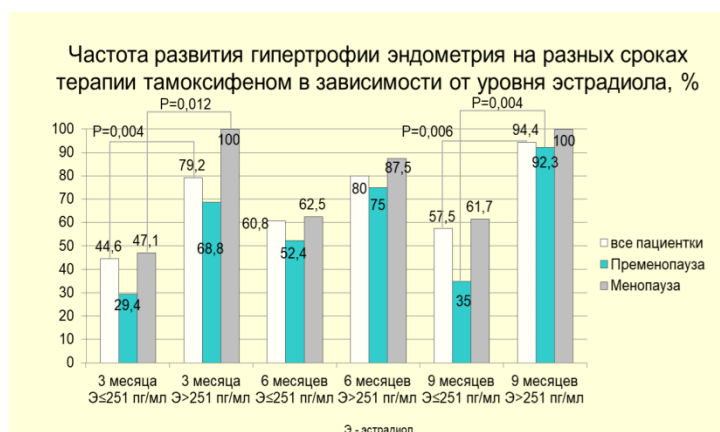


Рисунок 1 – Частота развития гипертрофии эндометрия в зависимости от уровня эстрадиола в период исследования

Увеличение концентрации эстрадиола в 2 раза через 3 месяца терапии тамоксифеном было статистически значимо ассоциировано с увеличением шансов развития гипертрофии эндометрия через 3 месяца терапии в среднем в 1,56 [95% ДИ: 1,11; 2,43] раза ($p = 0,025$) и увеличением шансов развития гипертрофии эндометрия через 9 месяцев терапии в среднем в 1,63 [95% ДИ: 1,12; 2,71] раза ($p = 0,025$). Концентрация эстрадиола через 6 месяцев терапии тамоксифеном также была статистически значимым предиктором гипертрофии эндометрия через 9 месяцев (ОШ для увеличения концентрации в 2 раза = 1,44 [95% ДИ: 1,02; 2,25], $p = 0,05$). Увеличение концентрации эстрадиола в 2 раза через 9 месяцев терапии тамоксифеном было статистически значимым предиктором увеличения риска развития гипертрофии эндометрия через 9 месяцев терапии (ОШ для увеличения концентрации в 2 раза = 2,62 [95% ДИ: 1,42; 5,9], $p = 0,007$).

Влияние генетических полиморфизмов *CYP2D6* на овариальный стероидогенез и гипертрофию эндометрия на фоне терапии тамоксифеном

Молекулярно-генетическое исследование полиморфизмов гена *CYP2D6*, их влияние на овариальный стероидогенез и эндометрий в процессе адъювантной терапии тамоксифеном по поводу гормонозависимого РМЖ проведено у 145 больных. Частота наиболее распространенных в российской популяции аллелей гена *CYP2D6* *3, *4, *6, ассоциированных со сниженным метаболизмом тамоксифена, представлена в таблице 4.

Генотипы, ассоциированные с отсутствием активности фермента, были выявлены у 8 (5,5%) человек – у 7 А/А гомозигот по *CYP2D6**4 и у одной носительницы двух разных мутаций Tdel (*CYP2D6**6) и А/Г в (*CYP2D6**4). Остальные больные оказались гомозиготными

по аллелям, детерминирующим нормальную активность фермента у 76 (52,4%) человек, либо гетерозиготными по одному из изученных полиморфизмов у 61 (42,1%) человек, ассоциированных с ограниченной функциональностью фермента.

Таблица 4 – Частота генотипов и аллелей гена *CYP2D6* в исследованной группе пациенток

Полиморфизм	Частота генотипов, % (N)			Частота аллелей (%) и стат. ошибка ($\pm se$)		χ^2 (p)*
	A/A	A/del	del/del	A	del	
CYP2D6*3 (c.2549delA / rs35742686)	A/A	A/del	del/del	A	del	
	98,6 (143)	1,4% (2)	0	99,7 \pm 0,7	0,7 \pm 0,7	0,01 (0,933)
CYP2D6*4 (c.1846G> A / rs3892097)	A/A	A/G	G/G	A	G	
	4,8 (7)	39,3 (57)	55,9 (81)	24,5 \pm 3,6	75,5 \pm 3,6	0,58 (0,447)
CYP2D6*6 (c.1707delT / rs5030655)	T/T	T/del	del/del	T	del	

* тест хи-квадрат на отклонение от равновесия Харди-Вайнберга (p-значение)

Распространенность *CYP2D6*4* аллеля составила среди больных 41,4%, *CYP2D6*6* аллеля -2,1%, *CYP2D6*3* аллеля – 1,4% из них в гетерозиготном состоянии 89,1%, в гомозиготном – 10,9%. Данные близки к опубликованным в литературных источниках ранее.

Клинические и демографические характеристики больных не являлись значимыми предикторами развития гипертрофии эндометрия в исследуемой когорте (Таблица 5).

Таблица 5 – Характеристики исследованной группы пациенток с учетом *CYP2D6* - генотипа

Характеристика	Все пациентки N = 145	«Нормальные метаболизаторы» N = 76	«Слабые метаболизаторы» N = 69	p*
Демографические, антропометрические характеристики В верхней строке среднее (SD), в нижней строке медиана (1-ый - 3-ий квартили)				
Возраст (лет)	47,4 (6,2) 47 (44–51)	47,6 (5,9) 47 (44–52)	47,1 (6,5) 47 (43–51)	0,511
Масса тела (кг)	73 (15,6) 72 (62–80)	72,9 (12,9) 72 (64–80)	73 (18,2) 72 (61–80)	0,602
Рост (см)	164,6 (7,9) 164 (162–169)	164,4 (6,1) 164 (160–168)	164,7 (9,5) 164 (162–169)	0,190

ИМТ (кг/м ²)	27,6 (13,1) 25,6 (22,7–30,1)	27,1 (5,5) 25,9 (23–30,1)	28,2 (18,2) 25 (22,1–30,1)	0,576
Клинические, патоморфологические и иммуногистохимические характеристики				
Т, размер первичного опухолевого узла				0,231
1	82 (56,6%)	47 (61,8%)	35 (50,7%)	
2	46 (31,7%)	21 (27,6%)	25 (36,2%)	
3	5 (3,4%)	2 (2,6%)	3 (4,3%)	
4	12 (8,3%)	6 (7,9%)	6 (8,7%)	
N, наличие/отсутствие/распространённость метастазов в регионарных лимфатических узлах				0,963
0	76 (52,4%)	39 (51,3%)	37 (53,6%)	
1	54 (37,2%)	30 (39,5%)	24 (34,8%)	
2	13 (9%)	6 (7,9%)	7 (10,1%)	
3	2 (1,4%)	1 (1,3%)	1 (1,4%)	
G, степень дифференцировки опухоли				0,974
1 градация	28/143 (19,6%)	15/74 (20,3%)	13/69 (18,8%)	
2 градация	88/143 (61,5%)	45/74 (60,8%)	43/69 (62,3%)	
3 градация	27/143 (18,9%)	14/74 (18,9%)	13/69 (18,8%)	
Экспрессия эстрогеновых рецепторов в опухолевой ткани, %				0,864
1-20	6 (4,1%)	3 (3,9%)	3 (4,3%)	
21-30	1 (0,7%)	0 (0,0%)	1 (1,4%)	
≥31	138 (95,2%)	73 (96,1%)	65 (94,2%)	
Экспрессия рецепторов прогестерона в опухолевой ткани, %				0,370
1-20	30 (20,7%)	17 (22,4%)	13 (18,8%)	
21-30	2 (1,4%)	1 (1,3%)	1 (1,4%)	
≥31	113 (77,9%)	58 (76,3%)	55 (79,7%)	
Статус экспрессии рецепторов эпидермального фактора роста Her-2-neu				0,069
0	74 (51%)	36 (47,4%)	38 (55,1%)	
1	52 (35,9%)	28 (36,8%)	24 (34,8%)	
2	6 (4,1%)	2 (2,6%)	4 (5,8%)	
3	13 (9%)	10 (13,2%)	3 (4,3%)	
Индекс пролиферативной активности в опухолевой ткани (Ki-67), %				0,629
1-20	108 (74,5%)	57 (75,0%)	51 (73,9%)	
21-30	20 (13,8%)	9 (11,8%)	11 (15,9%)	
≥31	17 (11,7%)	10 (13,2%)	7 (10,1%)	

Химиотерапия				0,598
Не проводилась	68 (46,9%)	37 (48,7%)	31 (44,9%)	
Проводилась	77 (53,1%)	39 (51,3%)	38 (55,1%)	
Овариальная супрессия				0,293
Не проводилась	104 (72,2%)	57 (76%)	47 (68,1%)	
Проводилась	40 (27,8%)	18 (24%)	22 (31,9%)	
Менструальная функция до начала лечения				0,854
Отсутствует	48 (33,1%)	26 (34,2%)	22 (31,9%)	
Сохранена	97 (66,9%)	50 (65,8%)	47 (68,1%)	
Менструальная функция в процессе эндокринотерапии				0,441
Отсутствует	112 (77,2%)	56 (73,7%)	56 (81,2%)	
Сохранена	33 (22,8%)	20 (26,3%)	13 (18,8%)	

* - сравнение групп «нормальных» и «слабых» метаболизаторов по тесту Манна-Уитни (количественные признаки) и точному критерию Фишера (номинальные признаки).

При изучении концентрации ФСГ статистически значимых отличий на различных сроках наблюдения между группами выявлено не было. При изучении концентрации эстрадиола среди НМ в менопаузе отмечена тенденция к снижению частоты гиперэстрогении через 6 и 9 месяцев терапии по сравнению с частотой через 3 месяца ($p = 0,056$), у СМ в менопаузе отмечено статистически значимое снижение частоты развития гиперэстрогении через 6 и 9 месяцев по сравнению с частотой через 3 месяца ($p < 0,001$).

При изучении состояния эндометрия в соответствии с менопаузальным и метаболическим статусом было показано, что во всех группах наблюдали более высокую толщину эндометрия у НМ по сравнению со СМ. Среди пациенток в менопаузе отмечалось увеличение толщины эндометрия через 6 и 9 месяцев терапии тамоксифеном по сравнению с толщиной через 3 месяца как среди НМ (в среднем на 1,08 [95% ДИ: 0,01; 2,16] см ($p = 0,048$) и 1,81 [95% ДИ: 0,73; 2,89] см, $p < 0,001$, соответственно), так и СМ (в среднем на 1,29 [95% ДИ: 0,21; 2,36] см, $p = 0,015$ и 1,52 [95% ДИ: 0,44; 2,6] см, $p = 0,003$, соответственно). Среди пациенток в пременопаузе была выявлена статистически значимо большая толщина эндометрия у НМ по сравнению с СМ ($p = 0,044$).

При оценке динамики частоты гипертрофии эндометрия соответственно группам пациенток в ассоциации с менопаузальным статусом и *CYP2D6*-генотипом была прослежена тенденция к увеличению частоты гипертрофии эндометрия через 6 и 9 месяцев терапии по сравнению с частотой через 3 месяца (ОШ = 2,57 [95% ДИ: 0,9; 7,29] и 2,32 [95% ДИ: 0,82; 6,53], соответственно), а также тенденция к большей частоте гипертрофии эндометрия через 6 и

9 месяцев терапии у НМ по сравнению с СМ. При сравнительном анализе среди пациенток в менопаузе отмечена тенденция к большей частоте гипертрофии эндометрия у НМ через 3 и 9 месяцев терапии тамоксифеном (ОШ = 1,91 [95% ДИ: 0,91; 4,09] и 2,02 [95% ДИ: 0,93; 4,48], соответственно). Среди пациенток в пременопаузе через 6 месяцев терапии шанс развития гипертрофии эндометрия был в 4,8 [95% ДИ: 1,11; 23,6] раз выше у НМ ($p = 0,044$) (Рисунок 2).

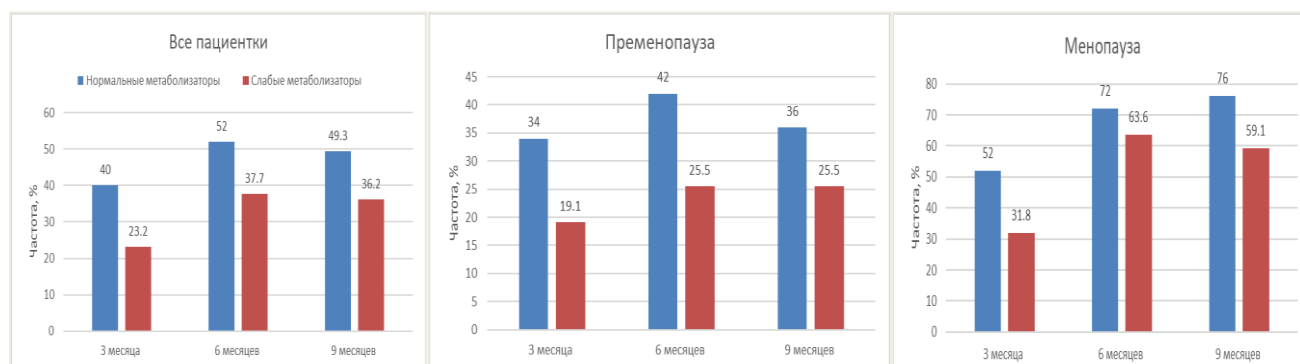


Рисунок 2 – Частота гипертрофии эндометрия для групп пациенток в соответствии с менопаузальным статусом и *CYP2D6*-генотипом

В исследуемой когорте среди НМ неизменно отмечалась более высокая частота случаев гипертрофии эндометрия, однако значимыми эти превышения были лишь на этапе 3 месяца исследования (40% по сравнению с 23,2%) для всех пациенток (ОШ = 2,21; $p = 0,034$). Регулярность этих различий позволила провести мета-анализ 3 периодов наблюдений для каждой группы пациенток. Результаты мета - анализа приведены в таблице 6. Проведенный мета - анализ показал, что среди НМ наблюдается значимо более высокая частота случаев гипертрофии эндометрия по сравнению со СМ (ОШ = 1,88; 95% ДИ = 1,27-2,79; $p = 0,002$) для всех периодов наблюдения.

Таблица 6 – Мета-анализ различий по частоте гипертрофии эндометрия у «нормальных» и «слабых» метаболизаторов в группах больных с учетом для всех периодов наблюдения

Группы	ОШ (Mantel-Haenszel odds ratio) *	95% ДИ	p (точный тест Фишера)
Все пациентки	1.88	1.27 - 2.79	0,002
Пременопауза	1.95	1.17 - 3.26	0.014
Менопауза	1.96	0.97 - 3.97	0.089

* оценка общего отношения шансов Мантеля-Гензеля

Результаты корреляционного анализа толщины эндометрия и концентрации эстрадиола показали, что среди пациенток в пременопаузе статистически значимая прямая корреляция

между толщиной эндометрия и концентрацией эстрадиола на всем протяжении наблюдения отмечалась только у НМ ($\rho = 0,54$ [95% ДИ: 0,13; 0,79], 0,51 [95% ДИ: 0,08; 0,78] и 0,66 [95% ДИ: 0,31; 0,85] через 3, 6 и 9 месяцев терапии, соответственно), среди пациенток в менопаузе толщина эндометрия статистически значимо коррелировала с концентрацией эстрадиола только среди СМ через 9 месяцев терапии тамоксифеном ($\rho = 0,36$ [95% ДИ: 0,1; 0,57]). Таким образом, совокупность таких явлений, как отсутствие инактивирующего генотипа по аллелям *CYP2D6* *3, *4, *6, пременопаузальный статус и реализация эффекта индукции овариального стероидогенеза являются факторами риска развития гипертрофии эндометрия на фоне терапии тамоксифеном.

Выводы

1. На фоне адъювантной терапии тамоксифеном у больных РМЖ патологические изменения эндометрия выявлены у 499 (9,36%) из 5331 пациенток.

2. РЭ диагностирован у 7 (0,13%) пациенток, получавших адъювантную терапию тамоксифеном; среди пациенток, у которых выявлены патологические изменения эндометрия по УЗИ, частота РЭ составила 1,4%.

3. На фоне адъювантной терапии тамоксифеном увеличение возраста больных на каждый год статистически значимо ассоциировано со снижением шансов выявления патологических изменений эндометрия в среднем в 1,02 раза [95% ДИ: 1,01; 1,03] ($p < 0,001$); возраст ≥ 60 лет статистически значимо ассоциирован со снижением шансов выявления патологии эндометрия в 1,4 раза [95% ДИ: 1,15; 1,69] ($p < 0,001$).

4. Тамоксифен вызвал патологическое повышение уровня эстрадиола у 39,4% пациенток в пременопаузе (выше верхней границы референсных значений для овуляции, составлявшей 251 пг/мл).

5. Патологическое повышение уровня эстрадиола вследствие приема тамоксифена статистически значимо ассоциировалось с гипертрофией эндометрия у больных в пременопаузе 92,3% против 35,0% ($p = 0,004$).

6. Увеличение концентрации эстрадиола в 2 раза через 3 месяца терапии тамоксифеном статистически значимо ассоциировано с увеличением шансов развития гипертрофии эндометрия в среднем в 1,56 раза [95% ДИ: 1,11; 2,43] ($p = 0,025$) и увеличением шансов развития гипертрофии эндометрия через 9 месяцев терапии в среднем в 1,63 раза [95% ДИ: 1,12; 2,71] ($p = 0,025$). Увеличение концентрации эстрадиола в 2 раза через 9 месяцев терапии тамоксифеном было статистически значимым предиктором увеличения риска развития

гипертрофии эндометрия через 9 месяцев терапии (ОШ для увеличения концентрации в 2 раза = 2,62 [95% ДИ: 1,42; 5,9], $p = 0,007$).

7. Гипертрофия эндометрия на фоне адъювантной терапии тамоксифеном чаще наблюдалась у пациенток без инактивирующих аллелей *CYP2D6* на 3 месяце наблюдения: 40% в группе «нормальных метаболизаторов» по сравнению с 23,2% в группе «слабых метаболизаторов» ($p=0,034$).

8. Среди «нормальных метаболизаторов» тамоксифена наблюдается значимо более высокая частота случаев гипертрофии эндометрия по сравнению со «слабыми метаболизаторами» (ОШ = 1,88; 95% ДИ = 1,27-2,79; $p = 0,002$).

Практические рекомендации

По результатам проведенного исследования нами сделан вывод о необходимости выполнения ультразвукового метода диагностики у больных РМЖ, принимающих тамоксифен, не чаще, чем через 6-9 месяцев от начала эндокринотерапии. При бессимптомной гипертрофии эндометрия на фоне адъювантной гормонотерапии тамоксифеном выполнение РДВМ не рекомендовано. Перевод больных, достигших подтвержденной менопаузы, на ИА является приемлемой стратегией для нивелирования нежелательных эффектов тамоксифена на эндометрий, реализации полного непрерывного курса адъювантной гормонотерапии. Алгоритм диагностики при развитии гипертрофии эндометрия на фоне приема тамоксифена должен основываться на измерении уровней эстрадиола и ФСГ вне зависимости от наличия/отсутствия менструальной функции у больной, что позволит установить патогенез развития изменений эндометрия. Фармакогенетическое тестирование на определение генотипа по аллелям *CYP2D6* *3, *4, *6 может быть рекомендовано для углубленного индивидуального анализа причин формирования патологии эндометрия.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Определение роли аллельных вариантов *CYP2D6* *3, *4, *6 в сочетании с оценкой особенностей овариального стероидогенеза может уточнить патогенез воздействия тамоксифена на эндометрий и требует дальнейшего изучения в крупных исследованиях.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Горяинова, А.Ю.** Эндокринная терапия рака молочной железы: канцерогенные эффекты тамоксифена / А.Ю. Горяинова, А.И. Стукань, С.В. Мурашко, С.В. Шаров, А.А. Мещеряков // Эффективная фармакотерапия. – 2021. – Т.17, № 5 . – С.20–24.

2. **Горяинова, А.Ю.** Индукция овариального стероидогенеза как дополнительный потенциальный фактор риска прогрессирования у пременопаузальных пациенток с гормон-рецептор-позитивным раком молочной железы, получающих тамоксифен в качестве адъювантной терапии / А.Ю. Горяинова, А.И. Стукань, Е.В. Лымарь, З.К. Хачмамук, И.Г. Селезнева // Медицинский совет. - 2022. – Т.9, №16. – С. 131–138.

3. **Горяинова, А.Ю.** Особенности овариального стероидогенеза и гипертрофия эндометрия на фоне адъювантной терапии тамоксифеном у пациенток в пременопаузе с гормонозависимым раком молочной железы / А.Ю. Горяинова, А.И. Стукань, А.И. Трофименко, А.А. Мещеряков // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2022. – Т.4, №18. – С.111-120.

4. **Горяинова, А.Ю.** Генотипы *CYP2D6**3, *4, *6 и гипертрофия эндометрия у больных раком молочной железы на фоне терапии тамоксифеном / А.Ю. Горяинова, Н.Ю.Усман, А.В. Рубанович, С.А. Боринская, А.А. Мещеряков // Вестник РГМУ. – 2023. – №5. – С.19-26.