



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Liāna Švampāne

PĀRMANTOTĀ ENDOMETRIJA VĒŽA RAKSTUROJUMS LATVIJĀ

Promocijas darba kopsavilkums
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – onkoloģija

Rīga, 2015

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Austrumu klīniskajā universitātes
slimnīcā Latvijas Onkoloģijas centrā

Darba zinātniskais vadītājs:

Dr. habil. med. profesors **Jānis Gardovskis**, Rīgas Stradiņa universitāte

Darba zinātniskais konsultants:

Dr. biol. profesors **Edvīns Miklaševičs**, Rīgas Stradiņa universitāte

Oficiālie recenzenti:

Dr. med. profesore **Simona Doniņa**, Rīgas Stradiņa universitāte
(Latvija)

Dr. med. docents **Jānis Eglītis**, Latvijas Universitāte

Dr. med. profesors **Ilvars Siliņš**, Upsalas Universitāte (Zviedrija)

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2015. gada 8. jūlijā plkst. 14.00
Rīgas Stradiņa universitātes Medicīnas promocijas padomes atklātā sēdē
Rīgā, Dzirciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU mājas lapā:
www.rsu.lv

Promocijas darbs veikts ar Eiropas sociālā fonda projekta “Atbalsts
doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei
Rīgas Stradiņa universitātē” finansiālu atbalstu



Promocijas padomes sekretārs:

Dr. med. docents **Arvīds Irmejs**

SATURS

Darbā lietotie saīsinājumi.....	4
Ievads	5
1. Materiāls un metodes	9
1.1. Pacientu vispārīgs raksturojums.....	9
1.2. Izmeklēšanas metodes.....	10
1.2.1. Ģimenes slimības vēstures analīze.....	10
1.2.2. Molekulārie izmeklējumi	12
1.2.3. DNS izolēšana.....	12
1.2.4. Polimerāzes ķēdes reakcija	12
1.2.5. PĶR ar fluorescējošu krāsvielu.....	13
1.2.6. Kapilāra elektroforēze.....	13
1.2.7. Sekvenču analīze.....	13
1.2.8. Imūnhistoķīmiskā metode	14
1.2.9. Statistiskās analīzes metodes	14
2. Rezultāti	16
2.1. Klīniskās īpatnības	16
2.2. Molekulārās īpatnības	25
2.3. Ciltskoki.....	27
2.3.1. HEC pozitīvas ģimenes ciltskoki	28
2.3.2. HNPCC pozitīvas ģimenes ciltskoki.....	30
3. Diskusija.....	32
4. Secinājumi.....	39
5. Praktiskas rekomendācijas	40
6. Autora publikācijas un ziņojumi	41
Izmantotā literatūra	46

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

CI – ticamības intervāls

DNS – dezoksiribonukleīnskābe

FIGO – Starptautiskā Ginekoloģijas un Dzemdniecības Federācija

G – *Grade*; vēža diferenciācijas pakāpe

HEC – (*hereditary endometrial cancer*) pārmantotais endometrija vēzis

HEC l.o. – (*hereditary endometrial cancer late onset*) vēlīnas attīstības pārmantotais endometrija vēzis

HEC s.s. – (*hereditary endometrial cancer site specific*) konkrētas lokalizācijas pārmantotais endometrija vēzis

HEC susp – (*hereditary endometrial cancer suspici*) iespējams pārmantotais endometrija vēzis

HNPCC – (*hereditary nonpolyposis colorectal cancer*) pārmantotais nepolipozais kolorektālais vēzis

HNPCC l.o. – (*hereditary nonpolyposis colorectal cancer late onset*) vēlīnas attīstības pārmantotais nepolipozais kolorektālais vēzis

IAfRoC – Starptautiskā Vēža pētniecības aģentūra

MMR – nepareizi sapārotu nukleotīdu labošana

MSI – mikrosatelītu nestabilitāte

PĶR – polimerāzes ķēdes reakcija

SEC – sporādiskais endometrija vēzis

IEVADS

2009. gadā sievietēm no visiem ļaundabīgiem audzējiem endometrija vēzis sievietēm Latvijā sastopams 6,9% gadījumu jeb incidence ir 29,02 uz 100 000 iedzīvotāju, savukārt mirušas ir 4,7% jeb incidence ir 10,72 uz 100 000 iedzīvotāju. Latvijā atklāto gadījumu skaits pa stadijām ir šāds: I stadijā – 57,8%, II stadijā – 12,6%, III stadijā – 13,6%, IV stadijā – 7,0%, bez stadijas – 9,0% (Latvijas Veselības ekonomikas centrs, 2010).

Endometrija vēzis ir ceturta biežākā vēža lokalizācija sievietēm daudzās pasaules attīstītajās valstīs. Piemēram, pēc Apvienotās Karalistes vēža aģentūras datiem 2011.g. visā reģionā konstatēti 8475 jauni endometrija vēža gadījumi, kas ieņēma ceturto vietu starp visām vēža lokalizācijām sievietēm. Salīdzinoši endometrija vēža incidence Apvienotajā Karalistē ir viena no zemākajām Eiropas Savienībā, bet visaugstākā ir Slovākijā, Čehijā un Latvijā (Cancer Research UK, 2014).

Pēc Starptautiskās Vēža pētniecības aģentūras datiem 2008.g. tika konstatēta pēdējo gadu laikā visaugstākā incidence ar endometrija vēzi pasaulē – 288 387 jauni endometrija vēža gadījumi jeb 8,2 uz 100 000 iedzīvotāju. Šajā gadā mirstība no endometrija vēža bija 73 854 gadījumi jeb 2,0 uz 100 000 iedzīvotāju. Eiropas augstāk attīstītos reģionos 2008.g. incidence bija 93 562 jauni gadījumi (12,3 uz 100 000 iedzīvotāju), bet zemāk attīstītos Eiropas reģionos – 144 869 pirmreizēji jauni diagnosticēti gadījumi (5,9 uz 100 000 iedzīvotāju) (IAFroC, 2010). 2011. gadā Latvijā konstatēti 383 pirmreizēji dzemdes vēža gadījumi (18,6 uz 100 000 iedzīvotāju), bet mirušas 82 sievietes no dzemdes vēža (2,8 uz 100 000 iedzīvotāju) (Latvijas Slimības profilakses un kontroles centrs, 2012).

Endometrija vēža incidence pieaug menopauzes un postmenopauzes vecuma sievietēm līdz 75%. Vidējais vecums saslimšanas brīdī ir 55 līdz 65 gadi (DiCristofano and Ellenson, 2007). Līdz 40 gadu vecumam endometrija vēža

diagnozi konstatē 2–5% no visiem endometrija vēža gadījumiem. Pēdējos 2 gados klīniskajā darbā vērojama tendence vidējam vecumam saslimšanas brīdī samazināties – vidēji 50–60 gadi.

Piecu gadu dzīvildze Latvijā kopumā visām stadijām ir 58,8%; I stadijā tā ir 86%, bet IV stadijā – tikai 12% (Latvijas Vēža slimnieku reģistrs, 2008). Terapijas efektivitāti, kā arī dzīvildzi ietekmē ne tikai slimības stadija, bet arī audzēja morfoloģiskās formas, nediferencēts vēzis, negatīvi hormonreceptori, aneuploīdi audzēji vai pozitīva peritoneāla citoloģija.

Izvērtējot visus endometrija vēža saslimstības rādītājus un riska faktoros, rodas nepieciešamība pēc iespējas agrīnai dzemdes vēža identifikācijai, radikālai terapijai vai arī, lai novērstu vēža attīstību vispār. Tādēļ atbilstoši profilaktiskie pasākumi, atklājot endometrija vēža riska grupu, ir uzskatāmi par vienu no visperspektīvākajiem onkoloģijas virzieniem.

Ilgākā laika periodā daudzu zinātnieku un pētnieku uzmanība pievērsta onkoloģiskai saslimstībai ģimenēs saistībā ar pārmantotību, kurās vairākiem vienas ģimenes locekļiem vairākās paaudzēs konstatē dažādas lokalizācijas vēža izplatību, t.sk. pārmantotā endometrija vēža (HEC) veidošanos, 2–5% gadījumu no visiem diagnosticētiem endometrija vēžiem (Watson et al., 1993).

Viens no vislabāk zināmajiem ir pārmantotais nepolipozais kolorektālais vēzis (HNPCC). Ir pierādīta vairāku gēnu saistība ar pārmantotā kolorektālā vēža attīstību, kā arī citas lokalizācijas vēža attīstību šī sindroma ietvaros. Šajās ģimenēs otra biežākā lokalizācija pēc kolorektālā vēža ir endometrija vēzis, un HNPCC sindroms palielina risku saslimt ar endometrija vēzi no 40 līdz 60% gadījumu (Watson et al., 1993, Vasen et al., 1994; Aarnio et al., 1999, Parc et al., 2000; Prat et al., 2007). Pēdējo gadu pētījumi liecina, ka eksistē arī otra endometrija vēža riska grupa, kuru ģimenēs vairākās paaudzēs sievietes kārtas I un II pakāpes radniecēm konstatē gēnu mutācijas saistībā ar pārmantoto endometrija vēzi (Sandles et al., 1992., Gruber and Thompson, 1996, Lurie et al., 2011).

Līdz šim visi pētījumi pārmantotā endometrija vēža gadījumā veikti dažādos ģeogrāfiskos reģionos un aptvertas dažādas etniskās grupas, kā rezultātā novērotas klīniskas un molekulāro īpatnību atšķirības. Tāpēc ir ļoti būtiski arī Latvijā veikt pētījumu, lai analizētu pārmantotā endometrija vēža klīniskās un molekulārās īpatnības. Pētījumu rezultāti ir ļoti svarīgi, lai izstrādātu Latvijas apstākļiem visatbilstošākās diagnostikas un aprūpes rekomendācijas pacientiem un riska grupā esošajiem indivīdiem. Šo rekomendāciju īstenošanai būtu nozīmīga loma onkoloģisko slimību ārstēšanas un profilakses rezultātu uzlabošanai Latvijā.

Darba mērķis

Izpētīt pārmantotā endometrija vēža klīniskās un molekulārās īpatnības Latvijā.

Darba uzdevumi

1. Izpētīt sporādiskā un pārmantotā endometrija vēža klīniskās īpatnības, analizējot ģimenes onkoloģiskās anamnēzes datus endometrija vēža pacientēm Latvijā.
2. Noteikt pārmantotā endometrija vēža incidenci Latvijā.
3. Noteikt predisponējošas mutācijas ģimenēs ar pārmantoto endometrija vēža klīniku un anamnēzi.
4. Noteikt *MSH2* un *MSH6* gēnu ekspresiju sporādiskā un pārmantotā endometrija vēža šūnās ar imūnhistoķīmiskām metodēm.
5. Noteikt dzīvildzi sporādiskā un pārmantotā vēža pacientu grupās.

Darba zinātniskā novitāte

Pirmo reizi Latvijā tika noteiktas pārmantotā endometrija vēža klīniskās un molekulārās īpatnības. Tika pierādīts, ka klasisko pārmantotā nepolipoza kolorektālā vēža sindroma diagnostisko kritēriju (Amsterdamas kritēriji) efektivitāte, kā arī tai piemērota pārmantotā endometrija vēža sindroma diagnostisko kritēriju efektivitāte, identificējot gan pārmantotā kolorektālā vēža sindromu, gan arī pārmantotā endometrija vēža sindromu, ir ļoti ierobežota. Tika apstiprināti pārmantotā endometrija vēža sindroma vēlinās

attīstības diagnostiskie kritēriji, kas arī pietiekoši efektīvi atklāj pārmantotā endometrija vēža diagnostiku.

Pētījuma praktiskais pielietojums

Pētījuma rezultāti apstiprināja, ka visām endometrija vēža pacientēm jāievāc rūpīga ģimenes onkoloģiskā anamnēze. Veicot ģimenes onkoloģiskās anamnēzes analīzi, jāidentificē paaugstinātā riska grupā esošās ģimenes, kas atbilst pārmantotā endometrija vēža sindroma vēlinas attīstības kritērijiem. Šajā grupā ar endometrija vēzi slimajām ģimenes locekļēm jāpiedāvā pilnu *MLH1*, *MSH2* un *MSH6* gēnu izmeklēšana. Ģimenēs ar pierādītu *MLH1*, *MSH2* un *MSH6* gēnu mutāciju visiem pacienšu veselajām asinsradniecēm jārekomendē molekulāro izmeklējumu veikšana. Visām slimajām un veselajām mutāciju nēsātājām jāveic īpaša profilaktisko pasākumu programma. Ģimenēs, kur nav pierādītas ar HEC un HNPCC sindromu saistītas mutācijas, profilaktisko pasākumu programma jāveic visām ģimenes locekļēm. Šo zināšanu īstenošana ikdienas klīniskajā praksē ievērojami veicinātu endometrija vēža agrīnu diagnostiku un ārstēšanas rezultātu uzlabošanu Latvijā.

Aizstāvēšanai izvirzītās tēzes

1. Latvijā klasisko Amsterdamas kritēriju nozīme pārmantotā endometrija vēža diagnostikā.
2. Latvijā ir sastopams potenciāli raksturīgs pārmantotā endometrija vēža sindroma gēnu mutāciju spektrs – *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*.
3. Ģimenēs ar HNPCC sindroma un HEC sindroma ir pārmantotā endometrija vēža raksturīgās fenotipiskās izpausmes vēža attīstībai.
4. *MSH6* gēna proteīna ekspresijas trūkums imūnhistoķīmiskā izmeklēšanā izmantojams kā atlases kritērijs, lai atklātu *MSH6* gēna konstitucionālo mutāciju nēsātājus secīgu hospitalizētu endometrija vēža pacienšu grupā Latvijā.

1. MATERIĀLS UN METODES

Pētījuma metodika ir apstiprināta Rīgas Stradiņa Universitātes ētikas komitejā.

1.1. Pacientu vispārīgs raksturojums

Prospektīva pētījuma laikā no 2006. gada janvāra līdz 2009. gada aprīlim Rīgas Austrumu klīniskajā universitātes slimnīcā Latvijas Onkoloģijas centrā kopumā apsekotas 704 secīgi hospitalizētas pacientes ar diagnozi endometrija vēzis. Visas 704 pacientes tika iekļautas pārmantotā endometrija vēža klīnisko un molekulāro īpatnību pētījumā, kura laikā tika iegūta ģimenes onkoloģiskā anamnēze. Gadījumi tika uzskatīti par secīgiem, ja vismaz 70% no pacientēm ar pirmreizēji diagnosticētu endometrija vēzi tika iekļautas pētījumā no konkrētās slimnīcas noteiktā laika periodā. Par galvenajiem iekļaušanas kritērijiem kalpoja slimnieču rakstiska piekrišana dalībai pētījumā. Tas iekļauj asins paraugu molekulāro izmeklēšanu, pēcoperācijas audu paraugu imūnhistoķīmiskā izmeklēšana, lai veiktu audu ģenētisko izmeklēšanu. Detalizēta informācija par slimības gaitu, tās morfoloģiskām īpatnībām un citi nepieciešamie rādītāji iegūti no slimības vēsturēm, ambulatorajām kartēm un Latvijas Veselības ekonomikas centra.

Visām slimniecēm diagnoze verificēta histoloģiski, dzemdes dobuma frakcionētās proves abrāzijas materiālā, kā arī pēcoperācijas materiāla histoloģiskajā izmeklēšanā.

1.2. Izmeklēšanas metodes

1.2.1. Ģimenes slimības vēstures analīze

Visām pacientēm tika iegūta standartizēta ģimenes onkoloģiskā anamnēze (skat. 1.1. tabulu). Pētījuma dalībniecēm bija jāatbild uz šādiem jautājumiem:

1. Vai kādam no jūsu radniekiem (mātei, tēvam, vecvecākiem, brāļiem, māsām, bērniem, mazbērniem, onkuļiem, tantēm) ir bijuši ļaundabīgi audzēji?
2. Kāda ir bijusi audzēju lokalizācija no minētās radnieku grupas?
3. Kādā vecumā audzējs konstatēts?

Ja bija nepieciešams, tad tika uzdoti papildus jautājumi par slimajiem ģimenes locekļiem, par pielietotajām ārstēšanas metodēm (piem., operācija, staru vai ķīmijterapija) un citi jautājumi, lai precizētu audzēja diagnozi un lokalizāciju.

Ģimenes onkoloģiskā anamnēze tika analizēta, izmantojot gan starptautiski atzītus, gan modificētus pārmantotā vēža diagnostiskos kritērijus (skat. 1.1. tabulu). Pacientes, kuru ģimenes onkoloģiskās anamnēzes dati atbilst pārmantotā vēža diagnostiskiem kritērijiem, tālākā pētījuma gaitā apzīmēti kā pārmantotie vēži. Pacientes, kurām netika konstatēts neviens ļaundabīgā audzēja gadījums ģimenes onkoloģiskajā anamnēzē, tika klasificētas kā sporādiskie vēži. Tāpat, ja ģimenes onkoloģiskajā anamnēzē atklāts viens vai vairāki dažādas lokalizācijas vēža gadījumi asinsradniekiem, bet netika konstatēta ciltskoka atbilstība nevienam no pētījumā izmantotajiem diagnostiskajiem kritērijiem, gadījums arī tika apzīmēts kā sporādisks vēzis.

Pārmantotā endometrija vēža diagnostiskie kritēriji

Nr.	Pārmantotais sindroms	Diagnostiskie kritēriji
1.	Definitīvs pārmantotais endometrija vēzis (HEC s.s.)	Vismaz 3 pirmās pakāpes asinsradniecēm endometrija vēzis, vismaz viens vēža gadījums diagnosticēts pirms 50 gadu vecuma
2.	Vēlīnas attīstības pārmantotais endometrija vēzis (HEC l.o.)	Trīs pirmās pakāpes radniecēs ar endometrija vēzi jebkurā vecumā
3.	Definitīvs nepolipozais kolorektālais vēzis (HNPPC)	Amsterdamas I kritēriji: 1) vismaz 3 asinsradniekiem kolorektālais vēzis, vismaz vienam jābūt pirmās pakāpes radniekam pārējiem diviem; 2) kolorektālais vēzis vismaz 2 sekojošās paaudzēs; 3) vismaz 1 vēža gadījums diagnosticēts pirms 50 gadu vecuma; 4) jāizslēdz ģimenes adenomatozā polipoze; 5) audzējiem jābūt histoloģiski apstiprinātiem
4.	Vēlīnas attīstības pārmantotais kolorektālais vēzis (HNPPC l.o.)	Amsterdamas kritēriji II vēlīnas attīstības: 1) vismaz 3 asinsradniekiem ar HNPPC sindromu saistīts vēzis (kolorektālais, endometrija, tievo zarnu, nieru blādiņas, uretera); vismaz vienam jābūt pirmās pakāpes radniekam pārējiem diviem; 2) vēzis vismaz 2 sekojošās paaudzēs; 3) vismaz 1 vēža gadījums diagnosticēts pirms 50 gadu vecuma; 4) jāizslēdz ģimenes adenomatozā polipoze; 5) audzējiem jābūt histoloģiski apstiprinātiem.
5.	Sporādisks vēzis	1) vienas vai divi dažādas lokalizācijas vēža gadījumi I vai II pakāpes asinsradniekiem; 2) nav neviens vēža gadījums ģimenēs

Ja ģimenes onkoloģiskajā anamnēzē tika konstatēta atbilstība pārmantotā endometrija vēža sindroma diagnostiskajiem kritērijiem, tad pacientes I pakāpes asinsradniecēs tika uzaicināta uz Rīgas Stradiņa Universitātes Pārmantotā vēža pētniecības centru, kur saņēma speciālista konsultāciju un rakstisku informāciju par viņas ģimenē konstatētā pārmantotā vēža sindroma klīniskajām īpatnībām, kā arī tika dotas profilaktiskās rekomendācijas.

Pēc pacienta informēšanas par pētījuma būtību un viņa rakstiskas piekrišanas, tika ņemti 6 ml perifēro venozo asiņu. Asinis tika uzglabātas +2–8 °C temperatūrā, un 7 dienu laikā tika veikta asiņu DNS izolēšana.

Asiņu paraugi paņemti visām 704 (100%) pacientēm.

109/704 (15,5%) pacientēm iegūti endometrija parafīna bloki imūnhistoķīmiskai izmeklēšanai.

1.2.2. Molekulārie izmeklējumi

MLH1, *MSH2* un *MSH6* gēnu DNS izmeklēšana tika veikta pacientēm, kuru ģimenēs konstatēti pārmantotā endometrija vēža un pārmantotā nepolipozā kolorektālā vēža sindroma diagnostiskie kritēriji. Kopumā pētījuma grupā molekulārā izmeklēšana veikta 11/19 (58%) pārmantotās grupas pacientēm, kuras atbilst tikai pārmantotā vēža diagnostiskiem kritērijiem.

1.2.3. DNS izolēšana

DNS izdalīšanai no pacientu venozajām asinīm izmantoja Qiagen FlexiGene DNA Kit atbilstoši ražotāja instrukcijai. DNA kvalitātes pārbaudi veica, izmantojot 1% agarozes gēlu ar sekojošu vizualizāciju un digitālo dokumentēšanu. Koncentrācijas mērījumiem izmantoja UV spektrofotometru Nanodrop 1000.

1.2.4. Polimerāzes ķēdes reakcija

Polimerāzes ķēdes reakciju (PĶR) izmantoja, lai iegūtu DNS fragmentus, ko iespējams tālāk izmantot sekvenēšanai. PĶR tika izmantoti iepriekš aprakstīti praimeri (Kolodner et al., 1994, 1995, 1999), optimizējot apstākļus.

1.2.5. PĶR ar fluorescējošu krāsvielu

PĶR reakcijai ar Applied Biosystems Big dye v3.1. fluorescences ķīmiju izmantoja Kolodner et al. (1994, 1995, 1999) aprakstītos praimerus. PĶR (50µl) fragmentu attīrīšanai tika izmantots Qiagen MinElute 96UF PCR. Purification Kit.

1.2.6. Kapilāra elektroforēze

Kapilāra elektroforēzi veica ar Applied Biosystems ģenētisko analizatoru AB13130, izmantojot 36 cm kapilāru un polimēru POP7, ar standarta apstākļiem, kā ieteikts Applied Biosystems instrukcijās.

1.2.7. Sekvenču analīze

Sekvenču analīze tika veikta ar Applied Biosystems programmām Sequencing analysis un SeqScape, kas atpazīst nukleotīdus, ļauj novērtēt datu kvalitāti, veikt pirmreizējo vizuālo mutāciju novērtējumu un rāmīša nobīdes mutāciju esamību, kā arī veic sekvenču salīdzinājumu pret references sekvencēm. SeqScape programmā automātiski nosaka iespējamās SNP mutācijas un norāda uz vietām, kur notikusi rāmīša nobīdes mutācija. Iegūto datu interpretācijai izmantotas vairākas datu bāzes – NCBI SNP, HGMD, Insight-group.

109/704 (15,5%) pētījuma grupā esošajos gadījumos tika veikta endometrija normālo un vēža audu paraugu imūnhistoķīmiskā izmeklēšana, lai noteiktu *MSH2* un *MSH6* gēnu ekspresija. Imūnhistoķīmisko izmeklējumu grupā tika iekļauti gadījumi, kuros slimnīcas patoloģijas nodaļā bija pieejami operācijas laikā iegūtie endometrija veselo un vēža audu paraugi.

636/704 (90,4%) gadījumos pacientēm tika veikta operatīva terapija, kuras laikā ir iegūti veselo un vēža audu preparāti. Imūnhistoķīmisko

izmeklējumu grupā ir iekļauti gadījumi pēc radikāli veiktām operācijām, kas bija iekļauti pētījumā.

1.2.8. Imūnhistoķīmiskā metode

Molekulārās īpatnības tika izmeklētas imūnhistoķīmiski. Lai izmeklētu endometrija audu paraugus, tika izmantota avidīna-biotīna-peroksidāzes metode (Hsu et al., 1981; Kiernan, 1999). Audu paraugi tika sākotnēji ielikti 10% formalīnā. Pēc tam tie tika ievietoti parafinā un no iegūtajiem blokiem tika izveidoti 4µm griezumi. Tos 60 minūtes inkubēja istabas temperatūrā 1:1000 liela atšķaidījuma truša antiserumā. Pēc tam paraugus trīsreiz skaloja fosfātu buferšķīdumā un inkubēja 60 minūtes istabas temperatūrā ar biotinilēto sekundāro antiserumu, kazas prettruša IgG, 1:40 lielā atšķaidījumā. Tālāk pagatavoja avidīna-biotīna kompleksa šķīdumu, sajaucot avidīna un biotinilēto mārrutku peroksidāzes šķīdumus. Pēc trīsreizējas griezumņu skalošanas fosfātu buferšķīdumā tos 60 minūtes istabas temperatūrā inkubēja avidīna-biotīna kompleksa šķīdumā. Tad griezumņus trīsreiz skaloja fosfātu buferšķīdumā. Pēc tam tika veikta vizualizācijas reakcija, tad paraugus skaloja ar destilētu ūdeni un pretkrāsoja 3 minūtes. Paraugiem uzlika segstikliņu un tos apskatīja mikroskopā. Rezultāti: 0 – negatīvs (proteīna iztrūkums – patoloģija); 1 – vāja ekspresija; 2 – vidēja ekspresija (nav mutācijas); 3 – intensīva ekspresija (nav mutācijas); F – ekspresija ir fokāla (perēklaina); F1 – perēklaina vāja ekspresija – aizdomas par mutāciju.

1.2.9. Statistiskās analīzes metodes

Ticamības intervāli. Datu analīzei tika sastādīti 95% Vilsona (Wilson, 1927) ticamības intervāli. Ticamības intervāli tika aprēķināti pacientu grupām, t.i., sporādiskā un pārmantota vēža grupai un katrai pārmantotā vēža pacientu apakšgrupai. Vilsona intervālu metode tika izraudzīta, jo šos intervālus tik ļoti

neietekmē kopējais pacienšu skaits grupā, atsevišķu pacienšu skaita attiecība pret kopējo grupas pacienšu skaitu, kā arī intervāls aptver tikai pozitīvas vērtības (Agresti and Coull, 1998). Tā kā pārmantotā vēža grupā bija neliels pacienšu skaits, šie apsvērumi bija būtiski.

Dzīvildzes analīze. Dzīvildze sporādiskā un pārmantotā vēža grupā tika analizēta, izmantojot GraphPad Prism 5 datorprogrammu un Kaplana-Meijera (Kaplan-Meier) metodi. P-vērtība aprēķināta, izmantojot Mantela-Koksa (Mantel-Cox) testu. Par statistiski nozīmīgu p-vērtību atzīta $p < 0,05$, kas norādītu uz lielu varbūtību, ka atšķirības dzīvildzē starp sporādiskā un pārmantotā vēža grupu nav nejaušas. Aprēķināta arī riska attiecība (*hazard ratio*) starp sporādiskā un pārmantotā vēža grupu, kas norāda, cik reižu lielāks mirstības risks piemīt pārmantotā vēža grupai, salīdzinot ar sporādiskā vēža grupu, pētījuma periodā.

Atšķirību noteikšanai starp sporādiskā un pārmantotā vēža grupu vēža aktivācijas rādītāju, saslimšanas vecuma, stadijas diagnozes uzstādīšanas brīdī un audzēja diferenciācijas pakāpēm lietots divu izlašu proporciju vienlīdzības tests bez kontinuitātes korekcijas un aprēķinātas p-vērtības programmā R. Mirušo pacienšu vidējā vecuma salīdzināšanai starp sporādiskā un pārmantotā vēža grupu lietots Manna-Vitneja U (Mann-Whitney U) tests.

2. REZULTĀTI

2.1. Klīniskās īpatnības

Veicot ģimenes onkoloģiskās anamnēzes datu analīzi 704 pacientēm ar histoloģiski apstiprinātu endometrija vēzi, iegūtie rezultāti sagrupēti pēc diagnostiskiem kritērijiem. Pārmantotam vēzim atbilstoši tika konstatēti 19/704 (2,7%) gadījumi. 7/704 (0,99%) gadījumos ģimenes onkoloģiskā anamnēze atbilst konkrētas lokalizācijas pārmantotā endometrija vēža (HEC s.s.) kritērijiem. Vēlīnas attīstības pārmantotais endometrija vēzis (HEC l.o.), atrodams 3/704 (0,43%) gadījumos. Vēl atsevišķi sagrupētas pacientes, kuru ģimenes anamnēze atbilst Amsterdamas kritērijiem I (HNPPC) un Amsterdamas kritērijiem II (HNPPC l.o.). Pārmantotā nepolipozā kolorektālā vēža sindromam (HNPPC) atbilstoši konstatēti 4/704 (0,57%) gadījumi, bet 5/704 (0,71%) gadījumi konstatēti ģimenēs ar vēlīnas attīstības pārmantoto nepolipozo kolorektālo vēzi (HNPPC l.o.). Grupā sporādiskie vēži ir 685/704 (97,3%) pacientes ar primāri diagnosticētu endometrija vēzi un neatbilst pārmantotam endometrija vēzim vai pārmantotam nepolipozam kolorektālam vēzim (skat. 2.1. tabulu).

2.1. tabula

Pārmantotā endometrija vēža sindroma incidence

Pārmantotais sindroms	Skaitis	%
HEC s.s.	7	0,99
HEC l.o.	3	0,43
HNPPC	4	0,57
HNPPC l.o.	5	0,71
Sporādiskie vēži	685	97,3
Kopā	704	100

Grupā sporādiskie vēži esam iekļāvuši arī pacientes, kuru ģimenēs ir otrs endometrija vēža gadījums kādai no I vai II pakāpes asinsradniecēm jebkurā vecumā, bet kuru ģimenes neatbilst klasiskajiem Amsterdamas kritērijiem. Šie gadījumi var tikt nosaukti kā iespējamie jeb suspektie pārmantotie endometrija

vēži. Sporādisko vēžu grupā tādas bija 78/685 (11,4%) ģimenes, bet 607/685 (88,6%) ģimenēs otrs endometrija vēža gadījums netika konstatēts.

Pētījumā piedalījās patientes, aptverot visas vecuma grupas, no 30 gadiem līdz 85 gadiem. Septiņām pacientēm, kuras pēc diagnostiskajiem kritērijiem atbilst HEC s.s. sindroma grupai, vecuma svārstības ir no 48 līdz 72 gadiem. Vidējais vecums saslimšanas brīdī bija 60,6 gadi.

Apskatot otru pārmantoto grupu, redzam, ka viena no četrām HNPCC grupas pacientēm saslimšanas brīdī ir 35 gadus veca, bet vecuma svārstības ir no 35 līdz 70 gadiem.

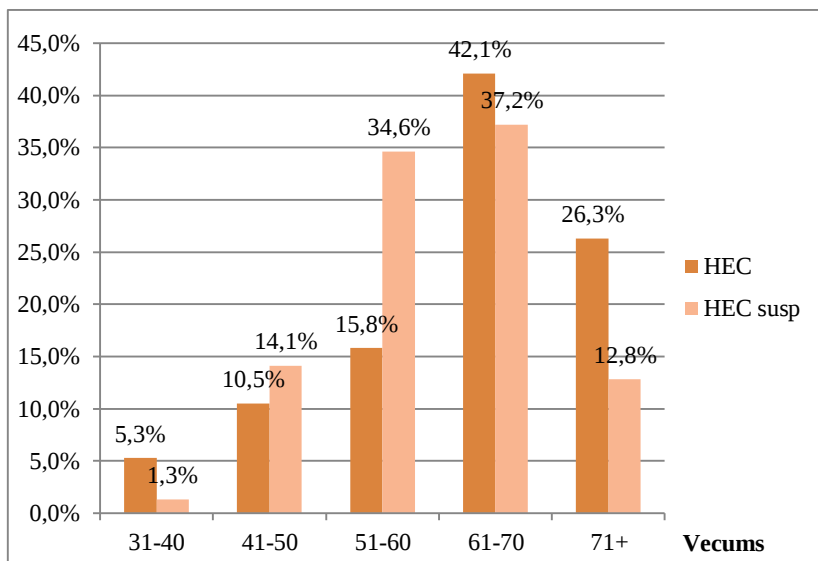
Kopējais raksturojums ir šāds: līdz 50 gadu vecumam pārmantotā vēža grupā ir 15,8% pacienšu. Līdz 40 gadiem 6/685 (0,9%; 95% CI: 0,4–1,9%) gadījumi, līdz 50 gadu vecumam no sporādiskās grupas 52/685 (7,6%; 95% CI: 5,8–9,8%) gadījumi. Vecuma grupā pēc 50 gadiem pārmantotā vēža grupā bija 84,2% pacienšu, no kurām līdz 60 gadiem 3/19 (15,8%; 95% CI: 5,5–37,6%) gadījumu, līdz 70 gadu vecumam sastop 8/19 (42,1%; 95% CI: 23,1–63,7%) gadījumu, bet pēc 70 gadu vecuma 5/19 (26,3%; 95% CI: 11,8–48,8%) gadījumi (skat. 2.2. tabulu).

2.2. tabula

Saslimšanas vecums un tā 95% ticamības intervāls pārmantotā un sporādiskā vēža grupas pacientēm pēc diagnostiskā sindroma

Diagnostiskais sindroms/ vecums gados	31–40 Skaits (%)	41–50 Skaits (%)	51–60 Skaits (%)	61–70 Skaits (%)	71 un vecākas Skaits (%)
Pārmantotie vēži	1 (5,3)	2 (10,5)	3 (15,8)	8 (42,1)	5 (26,3)
Sporādiskie vēži	6 (0,9)	52 (7,6)	193 (28,2)	236 (34,4)	198 (28,9)
CI 95% Pārmantotie vēži	0,9–24,6	2,9–31,4	5,5–37,6	23,1–63,7	11,8–48,8
CI 95% Sporādiskie vēži	0,4–1,9	5,8–9,8	24,9–31,7	31,0–38,1	20,2–25,8

Apskatot iespējamo jeb suspekto pārmantotā endometrija vēža apakšgrupu, šīm pacientēm vidējais vecums saslimšanas brīdī 60 gadi, bet viņu I vai II pakāpes radniecēm vidējais vecums saslimšanas brīdī bija 57 gadi. Salīdzinot ar pārmantoto vēzu grupu, redzam, ka nav statistiskas atšķirības un lielākais pacienšu skaits ir vecumā no 51 līdz 70 gadiem (skat 2.1. attēlu).



2.1. att. Vidējais vecums saslimšanas brīdī pārmantotā un iespējamā pārmantotā vēža grupā

Pētījumā aptvertas visas 4 vēža stadijas, kuras pacientēm diagnosticētas pēc operācijas 636/704 (90,4%) gadījumos. Bet 68/704 (9,6%) gadījumos stadija nevarēja tikt uzstādīta, jo pacientēm blakus saslimšanu dēļ nevarēja veikt operatīvu terapiju (skat. 2.3. tabulu).

Pētījumā iesaistīto pacientu iedalījums pēc slimības stadijas un 95% ticamības intervāls

Stadija	I		II		III		IV		Bez stadijas	
Skaitis/ %	437	62,1	88	12,5	95	13,5	16	2,3	68	9,6
95% CI	58,4–63,6		10,3–15,1		11,2–16,2		1,4–3,7		7,7–12,1	

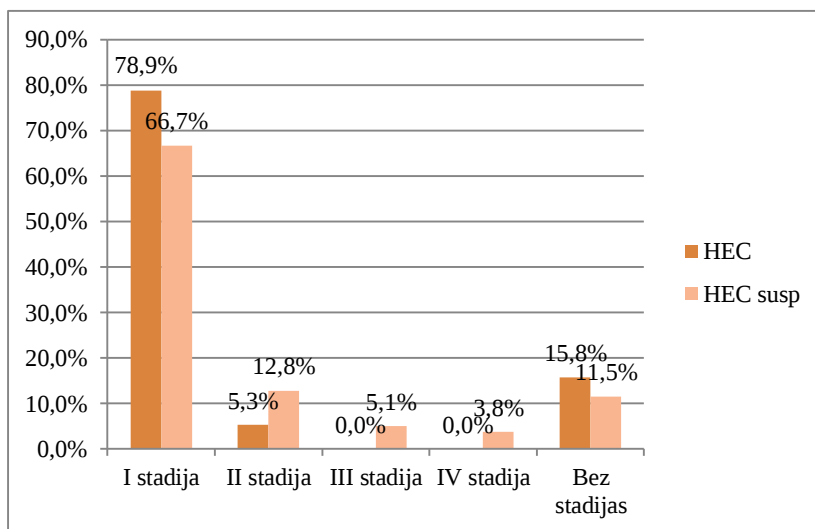
Pārmantotā vēža grupā 15/19 (78,9%; 95% CI: 56,7–91,5%) pacientēm diagnoze uzstādīta I stadijā, bet 1/19 (5,3%; 95% CI: 0,9–24,6%) – II stadijā. 3/19 (15,8%; 95% CI: 5,5–37,6%) gadījumos precīzu stadiju nevarēja uzstādīt, jo netika veikta operācija. Pēc diagnostiskajiem kritērijiem atbilstošs pārmantots endometrija vēzis III un IV stadijā nevienai pacientei netika diagnosticēts. Sporādiskā vēža grupā, ņemot vērā kopējo pacienšu skaitu (704 pacientes), diagnoze aptver visas četras stadijas (skat. 2.4. tabulu).

Pārmantotās un sporādiskās vēža grupas iedalījums pēc vēža stadijas diagnozes uzstādīšanas brīdī, 95% CI

Vēža stadija	Pārmantotie vēži (%)	95% CI	Sporādiskie vēži (%)	95% CI
I	15 (78,9)	56,7–91,5	419 (61,2)	57,5–64,7
II	1 (5,3)	0,9–24,6	97 (14,2)	11,7–17,0
III	-	-	92 (13,4)	11,1–16,2
IV	-	-	17 (2,5)	1,6–3,9
Bez stadijas	3 (15,8)	5,5–37,6	60 (8,7)	6,9–11,1
Kopā	19 (100)		685 (100)	

Iespējamā jeb suspektā pārmantotā endometrija vēža apakšgrupā lielākais skaits 52/78 (66,7%) pacienšu I stadijā, jo no kopējā izmeklēto pacienšu skaita vairāk ir pacientes ar endometrija vēža I stadiju. Atšķirība ir III un IV stadijā, pārmantotā vēža gadījumā nav neviena gadījums, bet iespējamā jeb suspektā pārmantotā endometrija vēža gadījumā III stadijā ir 8 (10,3%)

pacientes, bet IV stadijā 3 (3,8%) pacientes. Attiecībā pret sporādiskā vēža grupu dati ir līdzīgi kā pārmantotā vēža gadījumā (skat. 2.2. attēlu).



2.2. att. Vēža stadijas pārmantotā un iespējamā pārmantotā vēža grupā

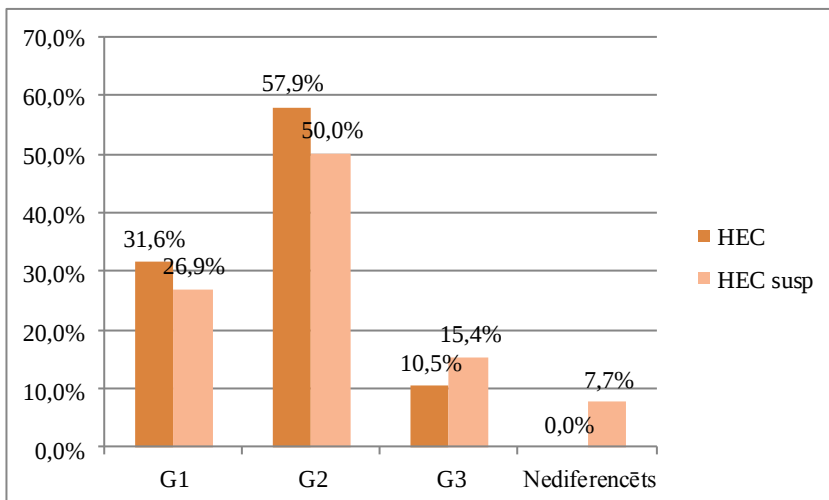
Ja apskatām pēc diferenciācijas pakāpes, tad redzams, ka abās grupās – gan pārmantotā vēža, gan sporādiskā vēža grupā – lielāks skaits atbilst augstai diferenciācijas pakāpei ($p = 0,70$).

Pārskatot atsevišķi pārmantoto grupu attiecībā pret sporādisko grupu, pēc diferenciācijas pakāpes, redzams, ka abās grupās īpašas atšķirības nenovēro (skat. 2.5. tabulu).

**Pārmantotās un sporādiskās vēža grupas iedalījums pēc audzēja
diferenciācijas pakāpes, 95% ticamības intervāls**

Diferenciācijas pakāpe	Pārmantotie vēži (%)	95% CI	Sporādiskie vēži (%)	95% CI
G1	6 (31,6)	1,4–54,0	189 (27,6)	24,4–31,1
G2	11 (57,9)	36,3–76,9	372 (54,3)	50,6–58,0
G3	2 (10,5)	5,7–51,0	98 (14,3)	11,9–17,1
Nediferencēts	-	-	26 (3,8)	2,6–5,5
Kopā	19 (100)		685 (100)	

Pēc endometrija vēža diferenciācijas pakāpes dati ir bez īpašas atšķirības pārmantotā vēža grupā un iespējamā jeb suspektā pārmantotā endometrija vēža gadījumā, (skat. 2.3. attēlu).



2.3. att. Diferenciācijas pakāpes pārmantotā un iespējamā pārmantotā vēža grupā

Lai izvērtētu vēža aktivitāti 4–5 gadu garumā, pacientēm, kurām endometrija vēzis diagnosticēts 2006. un 2007. gadā un atbilst sporādiskā vēža grupai, iegūti sekojoši dati. 2006. gadā pētījumā piedalījās 206/704 (29,3%; 95% CI: 84,1–92,2%) patientes no sporādiskās grupas. 5/206 (2,4%; 95% CI:

0,9–4,9%) pacientēm konstatēts endometrija vēža recidīvs, bet 18/206 (8,7%; 95% CI: 5,0–11,9%) pacientēm diagnosticē dažāda veida metastāzes (limfogēnas, kaulu, plaušu). 3/206 (1,5%; 95% CI: 0,2–3,1%) pacientēm atrod otru vēža lokalizāciju, kas nav saistīta ar endometrija vēzi. Līdzīgi rezultāti ir arī 2007.gadā, kad pētījumā piedalījās 210/704 (29,8%; 95% CI: 84,8–92,7%) gadījumi pirmreizēji diagnosticēta vēža pacientēm. 8/210 (3,8%; 95% CI: 1,5–6,6%) pacientēm konstatēts slimības recidīvs, bet 13/210 (6,2%; 95% CI: 3,3–9,2%) pacientēm bija endometrija vēža metastāzes limfmezglos, aknās kaulos. Savukārt otra vēža lokalizācija diagnosticēta 4/210 (1,9%; 95% CI: 0,7–4,4%) pacientēm (skat. 2.6. tabulu).

2.6. tabula

Vēža progresija un citas lokalizācijas vēzis sporādiskā vēža grupā 2006. un 2007. gadā anketētajām pacientēm 3 gadus pēc primāras terapijas, 95% ticamības intervāls

Sporādiskā vēža dg gads	Pacientu skaits	%	Recidīvs	%	Metastāzes	%	II lokalizācija	%
2006	206	29,3	5	2,4	18	8,7	3	1,5
95% CI	84,1–92,2		0,9–4,9		5,0–11,9		0,2–3,1	
2007	210	29,8	8	3,8	13	6,2	4	1,9
95% CI	94,8–92,7		1,5–6,6		3,3–9,2		0,7–4,3	

Apskatot datus 2 sadaļās, pārmantotie vēži un sporādiskie vēži, redzam, ka recidīvu biežums pārmantotās grupas pacientēm ir 5,3% (95% CI: 0,9–24,6%) gadījumu, atšķirībā no sporādiskās grupas 3,1% (95% CI: 1,8–5,3%) gadījumu ($p = 0,61$). Arī metastāzes hereditārās grupas pacientēm – 26,3% (95% CI: 11,8–48,8%) gadījumos konstatē biežāk kā 3 reizes salīdzinājumā ar sporādisko grupu – 7,5% (95% CI: 5,3–10,4%) gadījumos ($p < 0,01$). Otra vēža lokalizācija pārmantotā grupā diagnosticēta 3/19 (15,8%; 95% CI: 5,5–37,6%) gadījumos, bet grupā sporādiskie vēži – 7/416 (1,7%; 95% CI: 0,8–3,4%) gadījumos ($p < 0,01$). Slimības progresu vai metastazēšanos nenovēro 10/19

(52,6%; 95% CI: 31,7–72,7%) pārmantotās grupas pacientēm un 365/416 (87,7%; 95% CI: 84,2–90,6%) sporādiskā vēža pacientēm ($p < 0,01$; skat. 2.7. tabulu).

2.7. tabula

Vēža aktivācija pārmantotā un sporādiskā vēža grupās, 95% ticamības intervāls

Vēža aktivācija	Pārmantotais vēzis (%)	95% CI	Sporādiskais vēzis (%)	95% CI
Recidīvs	1 (5,3)	0,9–24,6	13 (3,1)	1,8–5,3
Metastāzes	5 (26,3)	11,8–48,8	31 (7,5)	5,3–10,4
II vēža lokalizācija	3 (15,9)	5,5–37,6	7 (1,7)	0,8–3,4
Bez atkārtotas vēža patoloģijas	10 (52,6)	31,7–72,7	365 (87,7)	84,2–90,6
Kopā	19 (100%)		416 (100%)	

No 2006. gada janvāra, kad ir uzsākts pētījums, līdz 2010. gada aprīlim mirušas 122/704 (17,3%) pacientes no kopējā pacienšu skaita (skat. 2.8. tabulu).

2.8. tabula

Mirušās pacientes visās endometrija vēža stadijās abās grupās kopā, 95% ticamības intervāls

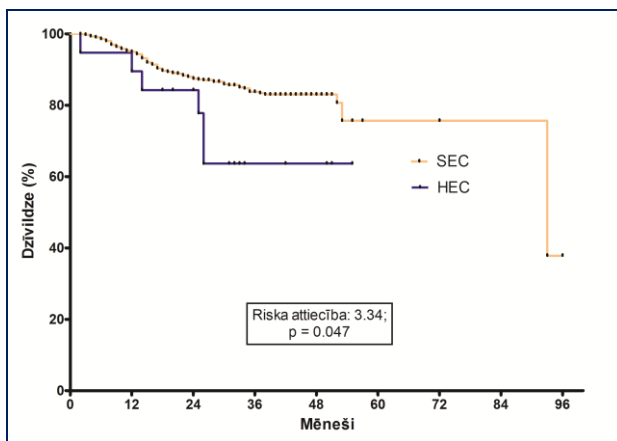
Stadija	I	II	III	IV	Bez stadijas
Pacientu skaits, (%)	38 (5,4)	19 (2,7)	25 (3,5)	11 (1,6)	29 (4,1)
95% CI	4,0–7,3	1,7–4,2	2,4–5,2	0,9–2,8	2,9–5,9

102/122 (83,6%) pacientes mirušas no endometrija vēža recidīva vai arī no tā izraisītām metastāzēm, bet 3/122 (2,5%) pacientes no citas lokalizācijas vēža, kurš tika diagnosticēts kontroles laika periodā. 17/122 (13,9%) pacientes mirušas sakarā ar dažādām blakus saslimšanām, kas nebija saistītas ar onkoloģiju, piemēram, sirds asinsvadu mazspēja. No pētījumā iekļautajām

19/704 (2,7%) pārmantotās grupas pacientēm, mirušas 6/122 (4,9%) sievietes. Viena paciente no HEC s.s. grupas, divas – no HEC l.o. Attiecīgi viena paciente no HNPCC grupas, bet divas – no HNPCC l.o. Divas no pacientēm mirušas sakarā ar otras vēža lokalizācijas izplatību un vēža intoksikāciju. Četrām pacientēm nāves cēlonis bija saistībā ar endometrija vēža recidīvu un tā izraisītām metastāzēm.

6/78 (7,7%) pacientes mirušas no suspektā pārmantotā endometrija vēža apakšgrupas, kas bija iekļautas sporādiskā vēža grupā. Visas 6 pacientes mirušas no endometrija vēža izraisītām komplikācijām un slimības progresu.

Dzīvildze līdz 24 mēnešiem ir gandrīz pusei no visām mirušajām pacientēm jeb 59/122 (48,4%), t.sk. arī viena no riska grupas pacientēm (HEC). Līdz 12 mēnešiem izdzīvoja 37/122 (30,3%) pacienšu, kā arī trīs patientes no riska grupām (HNPCC – 1, HNPCC l.o. – 2). 17/122 (14,0%) pacientēm dzīvildze bija līdz 36 mēnešiem, arī 2 patientes no riska grupas (HEC – 1, HEC l.o. – 1). Bet virs 36 mēnešiem un ilgāk – tikai 3/122 (2,4%) patientes (skat. 2.4. attēlu).



2.4. att. Dzīvildze pārmantotā un sporādiskā vēža grupai

Pētījuma beigu periodā no Slimību profilakses un kontroles centra iegūti dati par visām pētījumā iesaistītajām pacientēm, kuras mirušas tālākā laika periodā – līdz 2013.g. 1.decembrim. No 2006. gada janvāra līdz 2013. gada decembrim kopumā mirušas 204/704 (29%) patientes, 195/685 (28,5%) no sporādiskās grupas, bet 9/19 (47,4%) no pārmantotās grupas. Līdz šim brīdim mirušas divas HEC patientes – 2/19 (10,5%), divas HEV l.o. patientes – 2/19 (10,5%), divas HNPCC patientes – 2/19 (10,5%) un trīs HNPCC l.o. patientes – 3/19 (15,5%). Visām pārmantotās grupas patientēm nāves cēlonis saistīts ar vēža recidīvu vai vēža izraisītām metastāzēm.

2.2. Molekulārās īpatnības

Kopumā no 19 patientēm ar pārmantoto vēzi asins paraugu molekulārai izmeklēšanai piekrita 11/19 (57,9%) pārmantotās grupas patientes, no kurām 7/19 (36,8%) patientes pēc diagnostiskajiem kritērijiem atbilst HEC s.s. sindromam un 4/19 (21,1%) patientēm, kuras atbilst HNPCC sindromam. Gēnu mutācijas atrastas 6/11 (54,5%) HEC s.s. sindroma gadījumos un 2/11 (18,1%) HNPCC sindroma gadījumā. 3/11 (27,4%) gēnu mutācijas netika atrastas. Iespējamā jeb suspektā pārmantotā vēža patientēm molekulārā izmeklēšana netika veikta.

Vienai HNPCC patientei bija kodona nomaiņas mutācija P640S (rs63749792) *MLH1* gēnā. Citai patientei no HNPCC grupas bija splaissaita mutācija *MSH2* gēnā – IV5+A>T.

Mutāciju spektrs 4 HEC patientēm bija šāds: 2 nolasīšanas nobīdes mutāciju nēsātāji *MSH6* gēnā (2150TCAG (rs63750159)) un 1050delC, 2 kodona nomaiņas mutāciju nēsātāji *MLH1* (1219V (rs1799977)) un *MSH2* (G322D (rs4987188)) gēnos.

Divām patientēm netika atrastas iespējami klīniski nozīmīgas mutācijas.

HEC s.s. un HNPCC sindromu gēnu mutācijas biežums hospitalizēto endometrija pacienšu grupā ir 0,9%.

Imūnhistoķīmiski izmeklētās pacientu grupas molekulārās īpatnības aprakstītas tālāk. Veicot atkārtotu endometrija audu paraugu pārbaudi 2/113 (1,8%) gadījumos preparātā netika konstatēti vēža audi. Vēl 2/113 (1,8%) gadījumos imūnhistoķīmiskās izmeklēšanas laikā tika konstatētas būtiskas tehniskas problēmas, kas liedza izvērtēt izmeklējumu rezultātus. 109/113 (96,4%) gadījumos tika analizēta *MSH2* un *MSH6* gēnu proteīnu ekspresija endometriju veselajos un vēža audos. Imūnhistoķīmiskā izmeklēšana pieejamiem audu paraugiem veikta 7/19 (36,8%) pārmantotās grupas pacientēm un 95/685 (13,9%) sporādiskās grupas pacientēm. 14/102 (13,7%) gadījumos tika konstatēta negatīva *MSH2* gēna proteīna ekspresija sporādiskā vēža grupā. No 3/7 (42,8%) izmeklētajām HEC s.s. grupas pacientēm negatīvu *MSH2* gēna proteīna ekspresiju neatrod, bet izmeklētajos audu paraugos 3/7 (42,8%) HEC l.o. pacientēm 1/7 (14,3%) gadījumā konstatē negatīvu *MSH2* gēna proteīna ekspresiju. Savukārt 23/102 (22,5%) gadījumos tika konstatēta negatīva *MSH6* gēna proteīna ekspresija sporādiskā vēža grupā. Apskatot pieejamos audu paraugus pārmantotā grupā, 3 HEC s.s. grupas pacientēm *MSH6* gēnā negatīvu proteīna ekspresiju neatrod, bet 1/7 (14,3%) no 3 izmeklētajām 3 HEC l.o. pacientēm konstatē negatīvu *MSH6* gēna proteīna ekspresiju. Nebija pieejams neviens audu paraugs ar HNPCC sindromu. Ar HNPCC l.o. sindromu izmeklēts 1/7 (14,3%) gadījums, kurā *MSH2* gēnā negatīva proteīna ekspresija nav atrasta, bet *MSH6* gēnā ir atrasta. 8/102 (7,8%) sporādiskās grupas audzējos vienlaicīgi tika novērota negatīva *MSH2* un *MSH6* gēnu proteīnu ekspresija (skat. 2.9. tabulu).

**Negatīvo *MSH2* un *MSH6* gēnu proteīna ekspresijas gadījumu sadalījums
pārmantotā un sporādiskā vēža grupā**

Diagnostiskie kritēriji	Audu paraugi pieejami	Tehniskas problēmas	Izmeklētie gadījumi	<i>MSH2</i> proteīna ekspresija		<i>MSH6</i> proteīna ekspresija	
				Norm.	Negat.	Norm.	Negat.
HEC s.s.	3	-	3	3	-	3	-
HEC l.o.	3	-	3	2	1	2	1
HNPCC	-	-	-	-	-	-	-
HNPCC l.o.	1	-	1	1	-	-	1
Sporādiskie vēži	104	2	102	88	14	79	23
Kopā	109	2	109	94	15	84	25

No sporādiskā vēža grupas, atdalot suspekto pārmantotā vēža apakšgrupu, 21/78 (26,9%) gadījumos veikta imūnhistoķīmiskā analīze *MSH2* un *MSH6* gēnu proteīna ekspresijas noteikšanai. 1/78 (1,3%) gadījumā konstatēta negatīva *MSH2* proteīna ekspresija, 3/78 (14,3%) gadījumos negatīva *MSH6* gēna proteīna ekspresija, bet 3/78 (14,3%) gadījumos abu gēnu (*MSH2* un *MSH6*) proteīna ekspresija. 14/78 (66,7%) gadījumos gēnu proteīna ekspresiju neatrod.

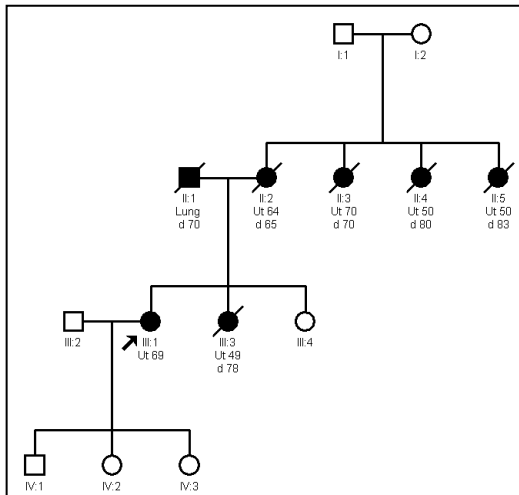
2.3. Ciltskoki

Lai veiktu pētījumā iekļauto pacientu datu apstrādi, veikta pacienšu ciltskoka analīze. Ciltskoka sastādīšana ir izstrādāta vēsturiski, bet tās nozīme pētījumos nav zaudējusi aktualitāti arī mūsdienās. Ciltskoku sastādīšanai un analīzei ir nozīmīga loma iedzimtu vai pārmantotu slimību gadījumos. Mūsdienās ir sagatavotas speciālas datorprogrammas, kuras izmanto ciltskoka zīmēšanai, datu apstrādei un analīzei.

2.3.1. HEC pozitīvas ģimenes ciltskoki

1. gadījums – pacients R. (Ident. Nr. C 492)

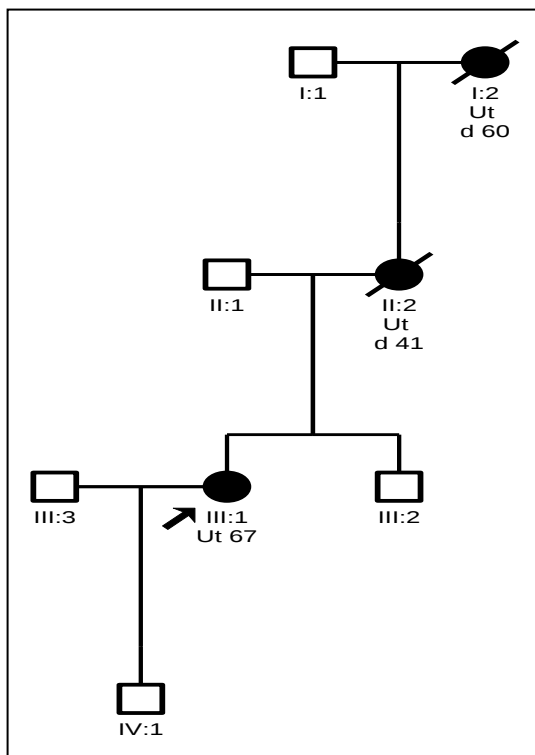
Probandam endometrija vēzis pirmreizēji diagnosticēts un histoloģiski pierādīts 69 gadu vecumā. Pēc aptaujas anketas, redzams, ka ģimenes ciltskokā endometrija vēzis sastopams sievietēm pa mātes līniju asinsradniecēm divās paaudzēs. Probanda mātei bija endometrija vēzis 64 gadu vecumā un divām mātes māsām un kuras saslimšanas brīdī bija līdz 50 gadu vecumam. Endometrija vēzis pirms 50 gadu vecuma diagnosticēts arī probanda mātai (49 gados). Vidējais vecums saslimšanas brīdī 58 gadi. Probanda tēvam bija plaušu vēzis pēc 30 gadu vecuma. Probandam veikta gēnu mutāciju noteikšana. Mutācijas noteiktas un atrastas divos gēnos – *MSH6*, *MLH1*. Imūnhistoķīmiskā izmeklēšana netika veikta, jo nebija pieejami parafīna bloki ar veseliem un vēža audiem. Pēc ģenētisko izmeklējumu atbilžu saņemšanas uzaicina uz konsultāciju slimnieces abas māsas. Abām māsām veikta konsultācija un piedāvāta gēnu molekulārā izmeklēšana. Vienai māsai netika atrastas gēnu mutācijas. Otrai māsai atrasta mutācija *MSH6* gēnā (skat. 2.5. attēlu).



2.5. att. Paciente R (Id.nr. C 492)

2. gadījums – paciente R. (Id.nr. C 458)

Probendam endometrija vēzis pirmreizēji diagnosticēts un histoloģiski apstiprināts 67 gadu vecumā. Slimnieces mātei dzemdes vēzis pirms 40 gadu vecuma, jo māte mirusi 41 gadu vecumā. Slimnieces vecmāmiņai (mātes mātei) dzemdes vēzis, diagnozes vecuma paciente nezina, bet vecmāmiņa mirusi 60 gadu vecumā. Aptuvenais vidējais vecuma saslimšanas brīdī 55 gadi. Pacientei veikta asins parauga molekulārā izmeklēšana. Konstatē gēnu mutācijas *MSH2*, *MSH6* un *MLH1* gēnos. Veikta imūnhistoķīmiskā izmeklēšana veselo un vēža audu paraugos, negatīvu proteīna ekspresiju *MSH2* un *MSH6* gēnos nekonstatē (skat. 2.6. attēlu).

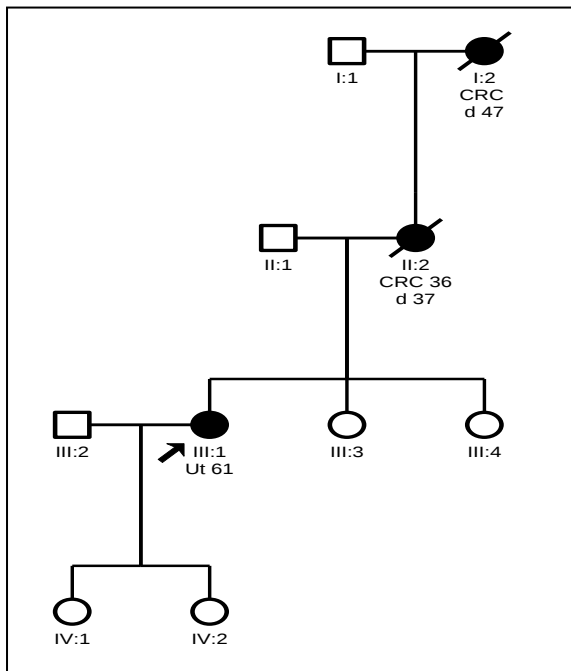


2.6. att. Paciente R (Id.nr. C 458)

2.3.2. HNPCC pozitīvas ģimenes ciltskoki

1. gadījums – paciente S. (Id.nr. D 167)

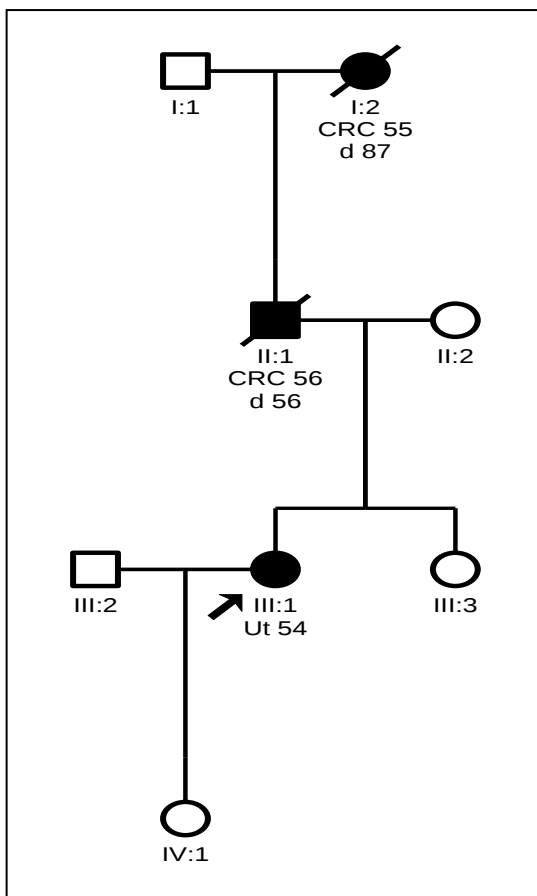
Pacientei endometrija vēzis pirmreizēji diagnosticēts un histoloģiski apstiprināts 61 gadu vecumā. Pacientes mātei resnās zarnas vēzis 36 gadu vecumā, mirusi 37 gadu vecumā. Pacientes vecmāmiņai (mātes mātei) arī resnās zarnas vēzis. Nav zināms vecums saslimšanas brīdī, bet vecmāmiņa mirusi 47 gadu vecumā. Aptuvenais vecums saslimšanas brīdī 47 gadi. Pacientei veikta asins parauga molekulārā izmeklēšana. Mutācija konstatēta *MLH1* gēnā, bet, lai noteiktu mutācijas *MSH2* un *MSH6* gēnā, bija nepieciešams papildus asins paraugs. Tā kā slimniece pēc 12 mēnešiem bija mirusi, atkārtoti paņemt asins paraugu nebija iespējams. Veselo un slimo audu paraugs imūnhistoķimiskai izmeklēšanai nebija pieejams (skat. 2.7. attēlu).



2.7. att. Paciente S (Id.nr. D 167)

2. gadījums – paciente A. (Id.nr. F 004)

Pacientei endometrija vēzis pirmreizēji diagnosticēts un histoloģiski apstiprināts 54 gadu vecumā. Pacientes tēvam zarnu vēzis, miris 56 gadu vecumā. Pacientes vecmāmiņai (tēva mātei) zarnu vēzis 55 gadu vecumā. Molekulārā izmeklēšanā *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* gēnu mutācijas nekonstatē. Veselo un vēža audu paraugi imūnhistoķīmiskai izmeklēšanai nav pieejami (skat. 2.8. attēlu).



2.8. att. Paciente A (Id.nr. F 004)

3. DISKUSIJA

Pēc literatūras datiem ir sastopami vairāki pētījumi par pārmantoto endometrija vēzi (Lynch et al., 1966; Hakala et al., 1991; Boltenberg et al., 1990). Lynch un līdzautori 1966.g. norāda par pētījumu, kurā 154 probandiem ar endometrija vēzi 20 (13,0%) gadījumos I pakāpes radniecēm konstatē līdzīgu simptomātiku (bojājumus). Literatūrā atrodams pētījums, kurā autori norāda par 4% gadījumu saistībā ar pārmantoto endometrija vēzi ģimenēs (mātēm un māsām), ievācot ģimenes onkoloģisko anamnēzi 51 pacientei ar endometrija vēzi (Boltenberg et al., 1990). Līdzīgā pētījumā cita autoru grupa atsevišķi izdala pacientes ar pārmantoto endometrija vēzi 8% gadījumu (Ollikainen et al., 2005).

Mūsu pētījumā piedalījās secīgi 704 patientes, kurām bija pirmreizēji diagnosticēts endometrija vēzis un atbilstoši diagnostiskiem kritērijiem 19/704 (2,7%) ģimenēs konstatē endometrija vēzi I pakāpes radniecēm. Ja salīdzina ar literatūras datiem, tad mūsu iegūtie rezultāti ir nedaudz atšķirīgi, kas ir izskaidrojams ar daudz lielāku pacienšu skaita piesaisti pētījumam un līdz ar to, veidojot plašāku atlasu pēc visiem diagnostiskajiem kritērijiem un augstāku ticamību rezultātiem, t.i., 2–3 reizes procentuāli mazāks pārmantotā endometrija vēža pacientu skaits.

Literatūrā aprakstīti daudzu gadu pētījumi par HNPCC sindromu un tā saistību ar pārmantoto endometrija vēzi, norādot par to, ka endometrija vēzis ir otra biežākā lokalizācija šajās ģimenēs pēc zarnu vēža. Pēc vairāku autoru datiem risks saslimt ar endometrija vēzi dzīves laikā ir no 40 līdz 60% HNPCC sindroma ietvaros (Aarnio et al., 1999; Dunlop et al., 1997).

Mēs savā pētījumā piesaistījām 704 patientes ar primāru ginekoloģisku vēzi, konkrēti, endometrija vēzi, četru gadu laika periodā, lai pēc pārmantotā vēža diagnostiskiem kritērijiem noteiktu, cik bieži ģimenēs sastopams kā primārs pārmantots endometrija vēzis, ja vairākās paaudzēs vairākām sievietēm kļūst asinsradniecēm ir bijis endometrija vēzis, kā arī, cik bieži sastop pārmantotu

endometrija vēzi HNPCC sindroma ietvaros. Arī literatūrā sastopamie aprakstītie pētījumu rezultāti kopumā liecina par autosomāli dominantu pārmantotību ģimenēs pacientēm ar endometrija vēzi (Lynch et al., 1966; Boltenberg et al., 1990; Ollikainen et al., 2005). Pēc mūsu pētījuma datu analīzes eksistē ģenētiskie mehānismi, kuri atbilst pārmantotības tendencēm.

Mūsu pētījumā HEC s.s. esamība kā atsevišķs ģenētiskais modelis sakrīt ar līdzīgu datu attēlojumu arī citu autoru darbos (Boltenberg et al., 1990; Ollikainen et al., 2005). Otrā grupā ar tādu pat ģenētisko modeli ir ģimenes, kurās kādam no I pakāpes radniekiem bijis kolorektālais vēzis, endometrija vēzis, olnīcu vēzis, atbilstoši Amsterdams I vai Amsterdams II kritērijiem. Ir aprakstīts pētījums, kurā 9 (3,1%) no 326 pacientēm arī konstatē tipiskas pazīmes HNPCC gadījumā (Prat et al., 2007). Pēc literatūras datiem kolorektālais vēzis ir 1–5% gadījumos ģimenēs ar HNPCC sindromu (Mecklin, 1987; Suomi et al., 1995). Literatūrā sastopamos vairākos pētījumos pacientēm ar Linča sindromu, endometrija vēža diagnoze sastopama no 1,8% līdz 2,1% (Goodfellow et al., 2003; Ollikainen et al., 2005; Hampel et al., 2006).

HNPCC varētu būt viena no biežākām pārmantotām slimībām, tā biežums ir viens saslimšanas gadījums uz 200 un viens no 2000 gadījumiem populācijā (Kee and Collins, 1991). Endometrija vēzis ir otra biežākā lokalizācija ģimenēs ar HNPCC sindromu (Marx, 1991; Mecklin and Jarvinen, 1991; Watson and Lynch, 1993). Ņemot vērā to, ka pamatojoties uz vidējiem saslimstības rādītājiem ar endometrija vēzi Latvijā, mēs sava pētījuma laika periodā esam iesaistījuši vairāk kā pusi no visiem endometrija vēža saslimšanas gadījumiem, mūsu iegūtie rezultāti atspoguļo pārmantotā endometrija vēža biežumu ģimenēs ar pozitīvu onkoloģisko anamnēzi – 10/704 (1,42%) HEC sindroma gadījumu un 9/704 (1,28%) HNPCC sindroma ietvaros.

Izņemot jau zināmo MMR gēnu mutācijas, kuras izraisa HEC, ir zināmi arī gēni ar mazu vai vidēju ietekmi uz saslimšanu, un tie visticamāk ir vairāku faktoru ietekmē (Spurdle et al., 2011; Long et al., 2012; Delahanty et al., 2013).

Bet mūsu pētījumā mēs balstījāmies uz pacientiem ar Linča sindromu. Tāpat zināms, ka sporādisko endometrija vēzi biežāk diagnosticē agrīnā stadijā, bet apmēram 10–15 % gadījumos nāves cēlonis ir vēža izraisītas metastāzes. Vēl lielāks risks agrīnam audzēja recidīvam vai metastāzēm ir pacientēm ar Linča sindromu. Britu un dāņu pētnieki apraksta pētījumu, kurā piedalās 269 sievietes no ģimenēm ar Linča sindromu saistībā ar dzīvildzes izpētes programmu. Programma paredz sievietēm no šīm ģimenēm, kurām līdz šim nav konstatēti iespējamie vēža simptomi, katru gadu veikt ultrasonogrāfisko izmeklēšanu. 2 sievietēm 6–24 mēnešu laikā pēc ultrasonogrāfiskās izmeklēšanas konstatē izmaiņas. Veicot dzemdes dobuma abrāziju, pie normālas ultrasonogrāfiskas apskates, atklāts endometrija vēzis agrīnā stadijā (Dove et al., 2002).

Citā pētījumā Nīderlandē 41 sievietei ar Linča sindromu ģimenēs, veicot dzemdes dobuma aspirācijas biopsiju, konstatē atipiskas izmaiņas 3 gadījumos 8 mēnešus pēc normālas ultrasonogrāfiskās izmeklēšanas. (Rijcken et al., 2003). Līdzīgā pētījumā Somijā 175 sievietēm ar Linča sindromu ģimenēs veikta transvagināla ultrasonogrāfiskā izmeklēšana. No 11 skrīningpacientēm, 6 konstatēja pie aspirācijas biopsijas vēža izmaiņas pie normālas ultrasonogrāfiskās atbildes (Renkonen-Sinsalo et al., 2007). Savukārt amerikāņu pētnieki veikuši pētījumi 315 sievietēm, kurām bija konstatētas gēnu mutācijas. 61 sievietei tika veikta profilaktiska dzemdes ekstirpācija. Turpinot profilaktisko novērošanu 10 gadus, konstatē, ka 33% gadījumu sievietēm, kurām profilaktiskā ķirurģiska terapija nebija veikta izveidojās endometrija vēzis. (Schmeler et al., 2006).

Endometrija vēzi kopējā populācijā pēc vecuma biežāk diagnosticē no 55 līdz 75 gadu vecumam (Lynch et al., 1994). Visiem pārmantotajiem vēžiem raksturīgi tas, ka slimības sākums ir gados jaunākiem cilvēkiem (Lynch et al., 1966; Hakala et al., 1991; Benatti et al., 1993). Bet ir pētījumi, kuros norāda par pieaugošu pārmantotu endometrija vēža risku, pieaugot pacienšu vecumam pēc 70 gadiem līdz pat 71% (Hendriks et al., 2004). Pēc vairāku pētnieku grupu

datiem pacientēm ar HNPCC sindromu, sievietes līdz 50 gadu vecumam, kurām diagnosticēts endometrija vēzis, mutāciju biežumu sastop no 4,9% līdz pat 9% gadījumu. (Berends et al., 2003; Lu et al., 2005; Hampel et al., 2006). Literatūrā ir atrodams pētījums, kurā autori (Prat et al., 2007) apraksta pacientes ar pārmantoto endometrija vēzi, neizceļot 50 gadu vecuma robežu un norādot vidējo vecumu saslimšanas brīdī 61,8 un 65,3 gadi. Savukārt citā pētījumā (Hakala et al., 1991) autori norāda par vidējo vecumu slimības sākumā 48,3 gadi, novērošanā iekļaujot 26 pacientes. No kopējiem rezultātiem redzams, ka augstāks risks saslimt ar endometrija vēzi ir menopauzes vai postmenopauzes periodā, tai skaitā arī ar pārmantoto endometrija vēzi. Autoru grupa, veicot datu analīzi 13 Eiropas valstīs, ņemot vērā riska faktorus saslimšanai ar endometrija vēzi, noteica, ka vidējais vecums ir < 55 gadiem (Bray et al., 2005).

Pēc mūsu pētījuma rezultātiem pārmantotā endometrija vēža grupas pacientēm endometrija vēzis diagnosticēts I stadijā 15/19 (78,9%) un tikai 1/19 (5,3%) pacientei bija II stadija. Ja izvērtējam iegūtos rezultātus salīdzinot ar sporādisko vēžu grupu, tad konstatējam, ka diagnoze I stadijā pārmantotās grupas pacientēm uzstādīta ir biežāk nekā sporādiskā vēža grupā – 419 (61,2%). Pretēji, HEC grupas pacientes, kurām stadija nebija uzstādīta 3 (15,8%) pacientēm, kas ir 2 reizes procentuāli augstāks radītājs kā grupā sporādiskie vēži – 60 (8,7%). Ja salīdzinām ar iepriekš minēto dažu autoru pētījuma rezultātiem, tad redzam, ka tieši I stadijā pārmantotā grupā ir relatīvi mazs gadījumu skaits 12 (60%) attiecībā pret sporādisko grupu 343 (77,6%), bet III stadijā rādītāji augstāki pārmantotā grupā 4 (20%) pretstatā sporādiskai grupai 24 (5,4%) (Hakala, 1991).

Attiecībā uz mūsu rezultātiem to varētu izskaidrot ar to, ka mēs iesaistījām pētījumā vairāk pacientes (704) un plašākā vecuma intervālā. Mūsu pētījumā lielākai daļai pacienšu diagnoze endometrija vēzis uzstādīta I stadijā 434/704. Ģimenes onkoloģiskā anamnēze tiek ievākta pēc iepriekš aprakstītajiem

diagnostiskiem kritērijiem, bet ne visas pacientes precīzi zināja savu I vai II pakāpes radinieču iespējamās onkoloģiskās diagnozes. Tā kā biežāk I stadija tika diagnosticēta gados jaunākām pacientēm, tāpēc arī anamnēzi varēja ievākt precīzāku.

Ja salīdzinām rezultātus ar citām ginekoloģiskā vēža lokalizācijām, kā arī krūts vēzi mūsu pētījuma laika periodā no 2006.gada līdz 2009.gadam, pacientēm, kuras ārstējušās Latvijas onkoloģijas centrā, tie ir sekojoši: I stadijā diagnoze olnīcu vēzis konstatēts 17,8% gadījumu, dzemdes kakla vēzis – 36,8% gadījumu, vulvas vēzis – 14,5% gadījumu, bet krūts vēzis – 26,9% gadījumu (Latvijas Veselības ekonomikas centrs, 2009). Redzam, ka pacientēm ar endometrija vēzi salīdzinoši agrīna diagnostika, ko var skaidrot ar to, ka slimnieces pēc primārā simptoma – asiņošana no dzimumceļiem, vēršas pie ginekologa pēc palīdzības, kā arī sievietes pievērš uzmanību saslimstībai ar onkoloģiskām slimībām ģimenē, tai skaitā endometrija vēža diagnoze kādai no ģimenes sievietēm.

Pārmantotajā grupā G1 un G2 pacienšu skaits nedaudz pārsniedz rādītājus no sporādiskās grupas, bet kopumā dati ir tuvināti. Dažādu autoru aprakstīto zinātnisko darbu rezultātos arī nav īpašas atšķirības no mūsu datiem (Hakala et al., 1991; Berends et al., 2003). Kopumā pēc visiem šiem rezultātiem jāsecina, ka stadijai un audzēja diferenciācijas pakāpei nav būtiskas atšķirības pārmantotā endometrija vēža grupā.

Kopumā par vēža aktivitāti un terapijas efektivitāti var spriest pēc pacienšu dzīvildzes, recidīva vai metastāžu konstatēšanas dažādā laika periodā pēc terapijas. To ietekmē slimības stadija diagnozes uzstādīšanas brīdī. Arī histoloģiskai atradei ir būtiska nozīme vēža procesa attīstībā. Viena no noteicošajiem faktoriem piecu gadu dzīvildzē pacientēm ar endometrija vēzi ir slimības stadija: I stadijā piecu gadu dzīvildze ir 85–95%, II stadijā 75%, III stadijā 50% un IV stadijā 20% pēc ķirurģiskas ārstēšanas (Chiang, 2011). Lielākā daļā slimības recidīvu vai metastāzes konstatē 2 gadus pēc ārstēšanas.

Pēc literatūras datiem ir zināms, ka lielāko pacientu skaitu ar endometrija vēzi sastāda pacientes agrīnā stadijā, bet apmēram 10–15 % no šīm pacientēm mirušas no vēža recidīva vai metastāzēm. Pirmajos divos gados mūsu pētījuma laikā (2006, 2007) konstatēts recidīvs vai metastāzes dažādos orgānos, kā arī otra lokalizācija pusei no pārmantotā endometrija vēža grupas pacientēm – 9 (47,4%) no 19. Tas liek domāt, par pārmantoto audzēju agresivitāti attiecībā pret pārējiem endometrija vēžiem populācijā, kaut arī pārmantotā vēža pacientēm salīdzinoši agrīna diagnostika un pielietota radikāla ārstēšana. Tā kā literatūras datu par līdzīgu atradi endometrija vēža pacientēm nav, tad nevar salīdzināt ar citiem pētījumiem.

Mūsu pētījumā pārmantotie vēži ir ne tikai ar augstāku recidīvu vai metastāžu risku, bet arī mirstības rādītāji no slimības progresā ir augstāki nekā pacientēm no sporādiskās grupas, kuru diagnoze nav saistīta ar iespējamām gēnu mutācijām. Literatūrā analizēta 5 gadu dzīvildze pēc vēža datu bāzes Nīderlandē. Salīdzināti dati dažāda vecuma un stadiju 50 pacientēm ar endometrija vēzi saistībā ar HNPCC sindromu attiecībā pret 100 pacientēm ar sporādisko endometrija vēzi, norādot ka 5 gadu dzīvildze abās grupās nav īpašas atšķirības. I stadijā HEC pacienšu dzīvildze 92%, bet sporādisko – 91%, bet III stadijā HEC pacienšu 5 gadu dzīvildze 72%, bet sporādisko – 50% (Boks et al., 2002). Mūsu pētījuma rezultāti, norādot par augstāku mirstību HEC pacienšu grupā, var liecināt par vēža agresivitāti jau pašā diagnozes sākumā. Par to liecina arī lielāks skaits pārmantotā endometrija vēža grupas pacienšu ar slimības recidīvu un metastazēšanos attiecībā pret sporādisko grupu.

Turpmākā datu apkopojuma periodā, papildinot rezultātus par mirušajām pacientēm līdz 2013.g. 1.decembrim, būtiskas izmaiņas nenovēro. Abās grupās vēro līdzīgu mirušo pacientu skaitu palielinājumu. Tā kā pārmantotā endometrija vēža grupā ir salīdzinoši neliels pacienšu skaits, tas arī veido samērā augstu mirušo procentuālo skaitu. Ja salīdzina iegūtos datus līdz

2010.g.aprīlim un turpinājumā līdz 2013.g. decembrim, redzams, ka vairāku gadu laika intervālā būtiskas straujas izmaiņas nenovēro. Varētu pieņemt, ka pie plašākas pārmantotā endometrija vēža grupas atlases ar lielāku pacienšu skaitu veidotos nelielas atšķirības saistībā ar dzīvildzi.

Mutāciju biežums ģimenēs ar Linča sindromu un tālāku kolorektāla vēža attīstību no 85–90% ir sastopamas *MLH1* un *MSH2* gēnos, bet 10–15% – *MSH6* gēnos (Goodfellow et al., 2003; Quehenberger et al., 2005). HNPCC sindroma ietvaros pacientēm ar endometrija vēzi biežākas ir *MSH2* un *MSH6* gēnu mutācijas (Doll et al., 2008; Garg et al., 2009). Mutācijas *MSH6* gēnā novērojamas gados vecākām endometrija vēža pacientēm (pēc 55 gadiem) (Wagner et al., 2001). MSI bojājumi endometrija vēža pacientēm sastopami 75% gadījumu no visiem, kuri radušies HNPCC sindroma gadījumā (Prat et al., 2007; Matias-guiu et al., 2001).

Pēc literatūras datiem imūnhistoķīmiskā izmeklēšana ir viena no metodēm, kura būtu mērķtiecīgi izmantojama gadījumos, lai veiktu precīzāku pārmantotā endometrija vēža diagnostiku, iepriekš veicot pacientu atlasī atbilstoši diagnostiskiem kritērijiem, mutāciju nesējiem, ievērojot pacienšu vecumu (no 50 līdz 60 gadiem) (Kwon et al., 2011).

Pētījumā izvirzītās hipotēzes ir apstiprinājušās – Latvijā ir sastopamas pārmantotā endometrija vēža sindroma raksturīgās mutācijas *MLH1*, *MSH2* un *MSH6* gēnos.

4. SECINĀJUMI

1. Analizējot klīniskās īpatnības ģimenēs ar onkoloģisko anamnēzi, kā arī ģimenēs, kurās I vai II pakāpes radniekiem nav bijis vēzis, netika noteiktas statistiski ticamas atšķirības starp sporādiskā un pārmantotā endometrija vēža pacientu grupām pēc vecuma, stadijas un vēža diferenciācijas pakāpes.
2. Pārmantotā endometrija vēža incidence secīgi hospitalizēto endometrija vēža pacientu grupā Latvijā ir 2,7% (95% CI: 1,7–4,2%).
3. Pārmantoto endometrija vēža sindromu Latvijā predisponē mutācijas *MSH2* un *MSH6* gēnos.
4. *MSH2* un *MSH6* gēna proteīna ekspresijas trūkums imūnhistoķīmiskā izmeklēšanā nepietiekoši efektīvs atlases kritērijs, lai atklātu jaunus *MSH2* un *MSH6* gēna konstitucionālo mutāciju nēsātājus secīga hospitalizēto endometrija vēža pacienšu grupā Latvijā.
5. Sporādiskā endometrija vēža grupā ir labāka dzīvildze nekā pārmantotā endometrija vēža grupai.

5. PRAKTISKAS REKOMENDĀCIJAS

1. Ģimenes ārstam un ginekologam jāievāc rūpīga ģimenes onkoloģiskā anamnēze visām endometrija vēža pacientēm.
2. Jāveic ģimenes onkoloģiskās anamnēzes izvērtēšana un jāidentificē ģimenes, kas atbilst pārmantotā endometrija vēža diagnostiskiem kritērijiem (Amsterdamas kritērijiem).
3. Ģimenēm, kuras atbilst pārmantotā endometrija vēža diagnostiskiem kritērijiem (Amsterdamas kritērijiem), jāsniedz atbilstošas profilaktiskās rekomendācijas.
4. Ģimenēs, kuras atbilst pārmantotā endometrija vēža diagnostiskiem kritērijiem (Amsterdamas kritērijiem), slimu pacienšu ģimenes locekļiem jāpiedāvā pilna *MSH6*, *MSH2* un *MLH1* gēna izmeklēšana.
5. Ģimenēs ar pierādītu *MSH6*, *MSH2* vai *MLH1* gēnu mutāciju jāpiedāvā mutācijas noteikšanu veselajiem asinsradiniekiem un agresīvāki profilaktiskie un ārstnieciskie pasākumi visiem veselajiem un slimajiem mutāciju nēsātājiem.
6. Rekomendēt ginekoloģisko apskati vienu reizi gadā, ultrasonogrāfisko izmeklēšanu vienu reizi gadā asinsradniecēm ar pierādītu *MSH2*, *MSH6* un *MLH1* gēnu mutāciju. Ja ultrasonogrāfiskajā izmeklēšanā konstatēta endometrija hiperplāzija, veikt endometrija morfoloģisko izmeklēšanu.
7. Pēc izmeklējumu rezultātiem personai izskaidrot saslimstības risku ar endometrija vēzi, piedāvāt veikt radikālu dzemdes ekstirpāciju.
8. Personām no ģimenēm ar pierādītu HEC s.s. sindromu gēnu mutāciju, kurām izmeklējumos mutācija netika atklāta, nav jāveic atbilstošie profilaktiskie pasākumi.
9. *MSH2* un *MSH6* gēnu proteīnu ekspresijas imūnhistoķīmiska izmeklēšana ar sekojošu *MSH6* un *MSH2* gēnu sekvenēšanu rekomendējama ģimenēs, kurās novēro HEC un HNPCC sindromu ar audzēja agregāciju.

6. AUTORA PUBLIKĀCIJAS UN ZIŅOJUMI

Pilni raksti recenzējamos izdevumos

1. **Svampane L.**, Strumfa I., Berzina D., Svampans M., Miklasevics E., Gardovskis J. Epidemiological analysis of hereditary endometrial cancer in a large study population. Arch Gynecol Obstet, 289: 1093–1099, 2014.
2. **Švampāne L.**, Štrumfa I., Irmejs A., Borošenko V., Miklaševičs E., Gardovskis J. Pārmantotā endometrija vēža diagnostisko sindromu klīnisko datu analīze. RSU Zinātniskie raksti 2009. Internā medicīna. Ķirurģija. Medicīnas bāzes zinātnes. Stomatoloģija. Farmācija. 2010, 283–288.
3. Gardovskis J., Štrumfa I., Miklaševičs E., Irmejs A., Trofimovičs G., Vjaters E., Borošenko V., Melbārde-Gorkuša I., Gardovskis A., Vanags A., Ābele A., Subatniece S., Bitiņa M., **Švampāne L.**, Žestkova J., Bērziņa D., Aksenoka K., Boka V., Puķītis A., Stāka A., Tihomirova L. Pārmantotie audzēji, to klīniskā un molekulārā izpēte, profilakses un agrīnas diagnostikas stratēģijas izstrāde. Latvijas iedzīvotāju dzīvildzi un dzīves kvalitāti apdraudošās slimības (zinātniskā analīze un galvenās rekomendācijas), Rīga, 2009, 57–66.
4. Gardovskis J., Štrumfa I., Miklaševičs E., Irmejs A., Trofimovičs G., Vjaters E., Borošenko V., Melbārde-Gorkuša I., Gardovskis A., Vanags A., Ābele A., Subatniece S., Bitiņa M., **Švampāne L.**, Žestkova J., Bērziņa D., Aksenoka K., Boka V., Puķītis A., Stāka A., Tihomirova L. Epidemiological, clinical, molecular features and early detection strategy of most frequent hereditary cancers in Latvia. Proc. Latvian Acad.Sci. Section B, 2009, 63, 131–140.
5. **Švampāne L.**, Irmejs A., Štrumfa I., Miklaševičs E., Gardovskis J. Pārmantotais endometrija vēzis – onkoloģiskās anamnēzes datu

analīze I un II pakāpes radiniekiem. RSU Zinātniskie raksti 2008. Internā medicīna. Ķirurģija. Medicīnas bāzes zinātnes. Stomatoloģija. Farmācija. 2009, 138–144.

6. **Švampāne L.**, Irmejs A., Gardovskis J., Miklaševičs E. Pārmantotais endometrija vēzis – ģimenes onkoloģiskās anamnēzes, sākotnējo klīnisko un histoloģisko datu analīze. RSU Zinātniskie raksti 2007. Internā medicīna. Ķirurģija. Medicīnas bāzes zinātnes. Stomatoloģija. Farmācija. 2008, 142–144.
7. **Švampāne L.**, Irmejs A., Gardovskis J., Miklaševičs E. Pārmantotais endometrija vēzis (ģimenes onkoloģiskās anamnēzes analīze). RSU Zinātniskie raksti 2006. Internā medicīna. Ķirurģija. Medicīnas bāzes zinātnes. Stomatoloģija. Farmācija. 2007, 157–159.
8. **Svampane L.**, Irmejs I., Miklasevics E., Gardovskis J. Hereditary endometrial cancer – analysis of the family cancer history. Acta Chirurgica Latviensis, 2006, pp.8–11.

Tēzes

1. **Svampane L.**, Nesterenko E., Strumfa I., Irmejs A., Miklasevics E., Gardovskis J. Endometrial adenocarcinoma, genetic analysis in cancer families. Int J Gynecol Cancer, Volume 21, Supplement 3, October 2011.
2. **Švampāne L.**, Štrumfa I., Miklaševičs E., Bērziņa D., Gardovskis J. Ģimenes onkoloģiskās anamnēzes un DNS molekulārās izmeklēšanas loma agrīnā pārmantotā endometrija vēža diagnostikā. 2011. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2011., 274.
3. Bērziņa D., Borošenko V., **Švampāne L.**, Žestkova J., Kalniete D., Subatniece S., Gardovskis J., Miklaševičs E. Mutāciju noteikšana

- mlh1 un msh2 gēnos HNPCC un HEC slimniekiem. 2010. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2010., 251.
4. Kalniete D., Borošenko V., **Švampāne L.**, Žestkova J., Bērziņa D., Irmejs A., Subatniece S., Gardovskis J., Trofimovičs G., Miklaševičs E. msh2 un mlh1 gēnu lielo delēciju un insērciju sastopamība pacientiem ar HNPCC sindromu. 2010. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2010., 252.
 5. **Svampane L.**, Nesterenko E., Strumfa I., Irmejs A., Miklasevics E., Gardovskis J. Hereditary endometrial cancer risk in a family. Int J Gynecol Cancer, Volume 19, Supplement 2, October 2009, 356.
 6. Bērziņa D., Žestkova J., Borošenko V., **Švampāne L.**, Irmejs A., Kalniete D., Trofimovičs G., Gardovskis J., Miklaševičs E. MSH2 gēna mutācijas msh2 IVS5+3 A>T biežums starp pacientiem ar HNPCC un HEC. 2009. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2009., 174
 7. Borošenko V., Irmejs A., Melbarde-Gorkusa I., Gardovskis A., Pavars M., **Svampane L.**, Vanags A., Strumfa I., Miklasevics E., Trofimovics G., Gardovskis J. Initial results of colorectal cancer determined low penetrance genes reasearch in Latvia. 2009. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2009., 175.
 8. **Švampāne L.**, Irmejs A., Borošenko V., Miklaševičs E., Gardovskis J. Klīnisko datu analīze pārmantotā endometrija vēža gadījumā. 2009. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2009., 176.
 9. **Švampāne L.**, Irmejs A., Štrumfa I., Gardovskis J. Endometrija vēža slimnieču ģimenes onkoloģiskās anamnēzes datu analīze. 2008. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2008., 164.
 10. **Švampāne L.**, Irmejs A., Gardovskis J. Pārmantotais endometrija vēzis – ģimenes onkoloģiskās anamnēzes, klīnisko un histoloģisko datu analīze. 2007. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2007.

11. **Švampāne L.**, Irmejs A., Gardovskis J. Pārmantotā endometrija vēža ģimenes onkoloģiskās anamnēzes, klīnisko un histoloģisko datu analīze. 4.Latvijas Ķirurģijas kongress, 31.05.– 01.06. 2007.
12. **Svampane L.**, Irmejs A., Gardovskis J. Hereditary endometrial cancer study in Latvia – first analysis of the family cancer history. 2007. Abstract from ESGO (European Society of Gynaecological oncology), Berlin, Germany.
13. Irmejs A., **Svampane L.**, Gardovskis J., Miklasevics E. First results on hereditary endometrial cancer study in Latvia. Cancer and Genetics, Lund University Hospital, 2006, p. 23.

Ziņojumi par pētījuma tēmu

1. **Svampane L.**, Nesterenko E., Strumfa I., Irmejs A., Miklasevics E., Gardovskis J. Endometrial adenocarcinoma, genetic analysis in cancer families. 6. Latvijas Ginekologu un dzemdību speciālistu kongress, Rīga, Latvija, 14.10–15.10.2011.
2. **Svampane L.**, Nesterenko E., Strumfa I., Irmejs A., Miklasevics E., Gardovskis J. Endometrial adenocarcinoma, genetic analysis in cancer families. 17th International meeting of the European Society of Gynaecological oncology (ESGO), Milan, Italy, 11.09.–14.09.2011.
3. **Švampāne L.**, Štrumfa I., Miklaševičs E., Bērziņa D., Gardovskis J. Ģimenes onkoloģiskās anamnēzes un DNS molekulārās izmeklēšanas loma agrīnā pārmantotā endometrija vēža diagnostikā. 2011. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2011.
4. **Švampāne L.** Endometrija vēzis – saistība ar ģimenes onkoloģisko anamnēzi. Latvijas onkoginekologu asociācijas sēde, 27.03.2009.

5. **Švampāne L.**, Irmejs A., Štrumfa I., Gardovskis J. Endometrija vēža slimnieču ģimenes onkoloģiskās anamnēzes datu analīze. 2008. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2008.
6. **Švampāne L.**, Irmejs A., Gardovskis J. Pārmantotais endometrija vēzis – ģimenes onkoloģiskās anamnēzes, klīnisko un histoloģisko datu analīze. 2007. gada Zinātniskās konferences tēzes, RSU 2007.
7. **Švampāne L.**, Irmejs A., Gardovskis J. Pārmantotā endometrija vēža ģimenes onkoloģiskās anamnēzes, klīnisko un histoloģisko datu analīze. 4.Latvijas Ķirurģijas kongress, 31.05.– 01.06. 2007.
8. **Svampane L.**, Irmejs A., Gardovskis J. Hereditary endometrial cancer study in Latvia – first analysis of the family cancer history. 15th International meeting of the European Society of Gynaecological oncology (ESGO), Berlin, Germany, 28.10.–01.11.2007.
9. **Švampāne L.** Pārmantotā endometrija vēža raksturojums. SIA RAKUS Zinātniskā konference „Onkoloģijas jaunumi 2007”. 02.11.2007.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Aarnio M., Sankila R., Pukkala E., Salovaara R., Aaltonen L. A., Chapelle A. de la, et al. Cancer risk in mutation carriers of DNA-mismatch-repair genes. *Int. J. Cancer*. 1999 Apr; 81(2): 214–218.
2. Agresti A., Coull B. A., Approximate is better than 'exact' for interval estimation of binomial proportions. *Am. Stat*. 1998 May; 52(2): 119–126.
3. Benatti P., Sassatelli R., Roncucci L., Pedroni M., Fante R. D., Gregorio C. et al. Tumour spectrum in hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) and in families with “suspected HNPCC”. A population-based study in northern Italy. Colorectal Cancer Study Group. *Int. J. Cancer*. 1993 May; 54(3): 371–377.
4. Berends M. J., Wu Y., Sijmons R. H., Sluis T. van der, Ek W. B., Ligtenberg M. J., et al. Toward new strategies to select young endometrial cancer patients for mismatch repair gene mutation analysis. *J. Clin. Oncol*. 2003 Dec; 21(23): 4364–4370.
5. Boks D. E., Trujillo A. P., Voogd A.C., Morreau H., Kenter G. G., Vasen H. F. Survival analysis of endometrial carcinoma associated with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Int. J. Cancer*. 2002 Nov; 102(2): 198–200.
6. Boltenberg A., Furgyk S., Kullander S. Familial cancer aggregation in cases of adenocarcinoma corporis uteri. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1990;69(3): 249–258.
7. Bray F., Dos Santos Silva I., Moller H., Weiderpass E. Endometrial cancer incidence trends in Europe: underlying determinants and prospects for prevention. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*. 2005 May;14(5): 1132–1142.

8. Cancer Research UK. Uterine (womb) cancer statistics. 2014.
Pieejams: <http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/types/uterus/>
9. Chiang J. W. Uterine Cancer Treatment & Management. 2011.
Pieejams: <http://www.mdguidelines.com/cancer-uterine>
10. Delahanty R. J., Xiang Y. B., Spurdle A., Beeghly-Fadiel A., Long J., Thompson D., et al. Polymorphisms in inflammation pathway genes and endometrial cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2013 Feb; 22(2): 216–223.
11. Di Cristofano A., Ellenson L. H. Endometrial carcinoma. *Annu Rev Pathol.* 2007; 2: 57–85.
12. Doll A., Abal M., Rigau M., Monge M., Gonzalez M., Demajo S., et al. Novel molecular profiles of endometrial cancer-new light through old windows. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2008 Feb; 108(3–5): 221–229.
13. Dove-Edwin I., Boks D., Goff S., Kenter G. G., Carpenter R., Vasen H. F., et al. The outcome of endometrial carcinoma surveillance by ultrasound scan in women at risk of hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma and familial colorectal carcinoma. *Cancer.* 2002 Mar; 94(6): 1708–1712.
14. Dunlop M. G., Farrington S. M., Carothers A. D., Wyllie A. H., Sharp L., Burn J., et al. Cancer risk associated with germline DNA mismatch repair gene mutations. *Hum. Mol. Genet.* 1997 Jan; 6(1): 105–110.
15. Garg K., Soslow R. A. Lynch syndrome (hereditary non-polyposis colorectal cancer) and endometrial carcinoma. *J. Clin. Pathol.* 2009 Aug; 62(8): 679–684.
16. Goodfellow P. J., Buttin B. M., Herzog T. J., Rader J. S., Gibb R. K., Swisher E., et al. Prevalence of defective DNA mismatch repair and MSH6 mutation in an unselected series of endometrial cancers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2003 May; 100(10): 5908–5913.

17. Gruber S. B., Thompson W. D. A population-based study of endometrial cancer and familial risk in younger women. Cancer and Steroid Hormone Study Group. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 1996 Jun; 5(6): 411–417.
18. Hakala T., Mecklin J. P., Forss M., Jarvinen H., Lehtovirta P. Endometrial carcinoma in the cancer family syndrome. Cancer. 1991 Oct; 68(7): 1656–1659.
19. Hampel H., Frankel W., Panescu J., Lockman J., Sotamaa K., Fix D., et al. Screening for Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) among endometrial cancer patients. Cancer Res. 2006 Aug; 66(15): 7810–7817.
20. Hendriks Y. M., Wagner A., Morreau H., Menko F., Stormorken A., Quehenberger F., et al. Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer due to MSH6 mutations: impact on counseling and surveillance. Gastroenterology. 2004 Jul; 127(1): 17–25.
21. Hsu S. M., Raine L., Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. J. Histochem. Cytochem. 1981 Apr; 29(4): 577–580.
22. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2008. 2010. Pieejams: <http://globocan.iarc.fr/>
23. Kee F., Collins B. J. How prevalent is cancer family syndrome? Gut. 1991 May; 32(5): 509–512.
24. Kiernan J. A. Histological and histochemical methods: theory and practice. 3rd ed. Oxford: Butterworth-Heinemann; 1999. p. 405–410.
25. Kolodner R. D., Hall N.R., Lipford J., Kane M. F., Morrison P. T., Finan P. J., et al. Structure of the human MLH1 locus and analysis of a large hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma kindred for mlh1 mutations. Cancer Res. 1995 Jan; 55(2): 242–248.

26. Kolodner R. D., Hall N.R., Lipford J. Kane M. F., Rao M. R., Morrison P., et al. Structure of the human MSH2 locus and analysis of two Muir-Torre kindreds for msh2 mutations. *Genomics*. 1994 Dec; 24(3): 516–526.
27. Kolodner R. D., Marsischky G. T. Eukaryotic DNA mismatch repair. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1999 Feb; 9(1): 89–96.
28. Kwon J. S., Scott J. L., Gilks C. B., Daniels M. S., Sun C. C., Lu K. H. Testing women with endometrial cancer to detect Lynch syndrome. *J. Clin. Oncol.* 2011 Jun; 29(16): 2247–2252.
29. Latvijas Slimību profilakses un kontroles centrs. Statistikas dati par 2011.gadu. 2012. Pieejams: <http://www.spkc.gov.lv/veselibas-aprupes-statistika/>
30. Latvijas Veselības ekonomikas centrs. Statistikas dati par 2009.gadu. 2010. Pieejams: <http://www.spkc.gov.lv/veselibas-aprupes-statistika/>
31. Latvijas Vēža slimnieku reģistrs. 2008.
32. Long J., Zheng W., Xiang Y. B., Lose F., Thompson D., Tomlinson I., et al. Genome-wide association study identifies a possible susceptibility locus for endometrial cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2012 Jun; 21(6): 980–987.
33. Lu K. H., Dinh M., Kohlmann W., Watson P., Green J., Syngal S., et al. Gynecologic cancer as a “sentinel cancer” for women with hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Obstet Gynecol.* 2005 Mar; 105(3): 569–574.
34. Lurie G., Gaudet M. M., Spurdle A. B., Carney M. E., Wilkens L.R., Yang H. P., et al. The obesity-associated polymorphisms FTO rs9939609 and MC4R rs17782313 and endometrial cancer risk in non-Hispanic white women. *PLoS ONE*. 2011; 6(2): e16756.

35. Lynch H.T., Krush A. J., Larsen A. L., Magnuson C. W. Endometrial carcinoma: multiple primary malignancies, constitutional factors, and heredity. *Am. J. Med. Sci.* 1966 Oct; 252(4): 381–390.
36. Lynch H. T., Lynch J., Conway T., Watson P., Coleman R. L. Familial aggregation of carcinoma of the endometrium. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1994 Jul; 171(1): 24–27.
37. Marx J. New colon cancer gene discovered. *Science.* 1993 May; 260(5109): 751–752.
38. Matias-Guiu X., Catus L., Bussaglia E., Lagarda H., Garcia A., Pons C., et al. Molecular pathology of endometrial hyperplasia and carcinoma. *Hum. Pathol.* 2001 Jun; 32(6): 569–577.
39. Mecklin J. P. Frequency of hereditary colorectal carcinoma. *Gastroenterology.* 1987 Nov; 93(5): 1021–1025.
40. Mecklin J. P., Jarvinen H. J. Tumor spectrum in cancer family syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *Cancer.* 1991 Sep; 68(5): 1109–1112.
41. Ollikainen M., Abdel-Rahman W. M., Moisio A. L., Lindroos A., Kariola R., Jarvela I., et al. Molecular analysis of familial endometrial carcinoma: a manifestation of hereditary nonpolyposis colorectal cancer or a separate syndrome? *J. Clin. Oncol.* 2005 Jul; 23(21): 4609–4616.
42. Parc Y. R., Halling K. C., Burgart L. J., McDonnell S. K., Schaid D. J., Thibodeau S. N., et al. Microsatellite instability and hMLH1/hMSH2 expression in young endometrial carcinoma patients: associations with family history and histopathology. *Int. J. Cancer.* 2000 Apr; 86(1): 60–66.
43. Prat J., Gallardo A., Cuatrecasas M., Catus L. Endometrial carcinoma: pathology and genetics. *Pathology.* 2007 Feb; 39(1): 72–87.

44. Quehenberger F., Vasen H. F., Houwelingen H. C. van. Risk of colorectal and endometrial cancer for carriers of mutations of the hMLH1 and hMSH2 gene: correction for ascertainment. *J. Med. Genet.* 2005 Jun; 42(6): 491–496.
45. Renkonen-Sinisalo L., Butzow R., Leminen A., Lehtovirta P., Mecklin J. P., Jarvinen H. J. Surveillance for endometrial cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Int. J. Cancer.* 2007 Feb; 120(4): 821–824.
46. Rijcken F. E., Mourits M. J., Kleibeuker J. H., Hollema H., Zee A. G. van der. Gynecologic screening in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gynecol. Oncol.* 2003 Oct; 91(1): 74–80.
47. Sandles L. G., Shulman L. P., Elias S., Photopulos G. J., Smiley L. M., Posten W. M., et al. Endometrial adenocarcinoma: genetic analysis suggesting heritable site-specific uterine cancer. *Gynecol. Oncol.* 1992 Nov; 47(2): 167–171.
48. Schmeler K. M., Lynch H. T., Chen L. M., Munsell M. F., Soliman P. T., Clark M. B., et al. Prophylactic surgery to reduce the risk of gynecologic cancers in the Lynch syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2006 Jan; 354(3): 261–269.
49. Spurdle A. B., Thompson D. J., Ahmed S., Ferguson K., Healey C. S., O'Mara T., et al. Genome-wide association study identifies a common variant associated with risk of endometrial cancer. *Nat. Genet.* 2011 May; 43(5): 451–454.
50. Suomi R., Hakala-Ala-Pietila T., Leminen A., Mecklin J. P., Lehtovirta P. Hereditary aspects of endometrial adenocarcinoma. *Int. J. Cancer.* 1995 Jul; 62(2): 132–137.
51. Vasen H. F., Watson P., Mecklin J. P., Jass J. R., Green J. S., Nomizu T., et al. The epidemiology of endometrial cancer in hereditary

nonpolyposis colorectal cancer. *Anticancer Res.* 1994; 14(4B): 1675–1678.

52. Wagner A., Hendriks Y., Meijers-Heijboer E. J., Leeuw W. J. de, Morreau H., Hofstra R., et al. Atypical HNPCC owing to MSH6 germline mutations: analysis of a large Dutch pedigree. *J. Med. Genet.* 2001 May; 38(5): 318–322.
53. Watson P., Lynch H. T. Extracolonic cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cancer.* 1993 Feb; 71(3): 677–685.
54. Wilson E. B. Probable inference, the law of succession, and statistical inference. *JASA.* 1927 Jun; 22(158): 209–212.