

DOI: 10.17650/2313-805X-2023-10-1-40-48



Молекулярные маркеры ответа на периперационную химиотерапию при местно-распространенном раке желудка

К.А. Оганян¹, А.А. Мусаелян^{1,2}, С.В. Лапин¹, Т.В. Купенская¹, А.А. Свечкова¹, М.А. Беляев¹, А.А. Захаренко¹, С.В. Орлов^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; Россия, 197022 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии»; Россия, Краснодарский край, Адлерский р-н, 354376 Сочи, с. Веселое, ул. Мира, 177

Контакты: Карина Амбарцумовна Оганян oganyan_karina@bk.ru

Введение. Периперационная химиотерапия по схеме FLOT улучшает прогноз у пациентов с местно-распространенным раком желудка (РЖ). Однако более чем в 50 % случаев новообразование нечувствительно к данной терапии, что, в свою очередь, обуславливает токсичность и отсрочку оперативного вмешательства. Определение молекулярно-генетических предикторов ответа на химиотерапию в режиме FLOT является важной задачей, поскольку позволит оптимизировать подходы к лечению пациентов с местно-распространенным резектабельным РЖ.

Цель исследования – оценка клинико-морфологических особенностей микросателлитной нестабильности, амплификации гена *HER2*, изменения копийности генов, а также их взаимосвязи с ответом на периперационную химиотерапию в режиме FLOT у больных местно-распространенным РЖ.

Материалы и методы. В ретроспективное исследование включены 185 пациентов, у которых исследован статус *HER2* и микросателлитной нестабильности. Из них 45 пациентов с РЖ T2–4N1–2M0, которым проведены субтотальная резекция желудка или гастрэктомия с лимфаденэктомией D2 и химиотерапия в режиме FLOT. Определение микросателлитной нестабильности проводилось путем фрагментного анализа, амплификации гена *HER2* методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization, FISH). Также у 19 больных проанализированы изменения копийности генов *KRAS*, *FGFR1*, *FGFR2*, *EGFR*, *MET*, *MYC*, *CCND1* с использованием метода мультиплексной лигазозависимой амплификации зондов (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA).

Результаты. Микросателлитная нестабильность выявлена в 4,8 % (9/185) случаев РЖ. Показана ее взаимосвязь с пожилым возрастом ($p = 0,005$), низкой степенью дифференцировки ($p = 0,011$), наличием опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов ($p = 0,0004$) и высоким предоперационным уровнем СА 72–4 ($p = 0,025$). Распространенность амплификации *HER2* составила 7,5 % (14/185) и была ассоциирована с низкой степенью дифференцировки ($p = 0,048$) и метастазированием в регионарные лимфатические узлы ($p = 0,037$). У пациентов с *HER2*-положительным РЖ (*HER2* – human epidermal growth factor receptor 2), получавших периперационную химиотерапию в режиме FLOT (4/45), показатели выживаемости без прогрессирования были достоверно ниже, чем у больных с *HER2*-отрицательным РЖ: медиана составила 156 и 317 дней соответственно (отношение рисков 0,49; 95 % доверительный интервал 0,16–1,47; $p = 0,0006$). У больных с амплификацией *KRAS* (3/19) эти показатели были достоверно ниже по сравнению с больными с ее отсутствием: медиана составила 98 и 327 дней соответственно (отношение рисков 0,29; 95 % доверительный интервал 0,07–1,19; $p < 0,0001$).

Заключение. Амплификации *HER2* и *KRAS* могут служить перспективными маркерами ответа у пациентов с местно-распространенным РЖ при проведении периперационной химиотерапии по схеме FLOT.

Ключевые слова: предиктивные маркеры, химиотерапия по схеме FLOT, рак желудка

Для цитирования: Оганян К.А., Мусаелян А.А., Лапин С.В. и др. Молекулярные маркеры ответа на периперационную химиотерапию при местно-распространенном раке желудка. Успехи молекулярной онкологии 2023;10(1):40–8. DOI: 10.17650/2313-805X-2023-10-1-40-48

Molecular markers as predictors of response to perioperative chemotherapy in locally advanced gastric cancer

K.A. Oganyan¹, A.A. Musaelyan^{1,2}, S.V. Lapin¹, T.V. Kupenskaya¹, A.A. Svechkova¹, M.A. Belyaev¹, A.A. Zakharenko¹, S.V. Orlov^{1,2}

¹Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; 17 Lev Tolstoy St., Saint Petersburg 197101, Russia;

²Research Institute of Medical Primatology; 177 Mira St., village Veseloe, Sochi 354376, Adler District, Krasnodar Territory, Russia

Contacts: Karina Ambartsumovna Oganyan oganyan_karina@bk.ru

Introduction. Perioperative FLOT chemotherapy has improved prognosis in patients with locally advanced resectable gastric cancer (GC). However, in 80 % of cases, the tumor is resistant to the therapy, resulting in unnecessary toxicity and delayed surgical treatment.

Aim. Evaluation of clinico-morphological patterns of microsatellite instability, *HER2* gene amplification, changes in gene copy number and their relationship with the response to perioperative FLOT chemotherapy in patients with locally advanced resectable GC.

Materials and methods. The retrospective study included 185 patients. All tumor samples were assessed for *HER2* and microsatellite instability status. Among all cases there were 45 patients with locally advanced T2–4N1–2 M0 GC, who underwent a total or subtotal gastrectomy with D2 lymphadenectomy and perioperative chemotherapy with FLOT. Microsatellite instability detection was performed using fragment analysis, *HER2* gene amplification testing – fluorescent in situ hybridization. Also 19 patients were tested for copy number changes of the *FGFR1*, *FGFR2*, *KRAS*, *MET*, *EGFR*, *CCND1*, *MYC* genes using Multiplex ligation-dependent probe amplification. The endpoints were progression-free survival and objective response rate.

Results. Microsatellite instability was detected in 4.8 % (9/185) of GC cases. Microsatellite instability was associated with advanced age ($p = 0.005$), low grade of differentiation ($p = 0.011$), presence of tumor-infiltrating lymphocytes ($p = 0.0004$), and high preoperative CA 72–4 levels ($p = 0.025$). Prevalence of *HER2* amplification was 7.5 % (14/185). It was associated with low grade of differentiation ($p = 0.048$) and metastasis in regional lymph nodes ($p = 0.037$). PFS in patients with *HER2*-positive (*HER2* – human epidermal growth factor receptor 2) GC treated with perioperative FLOT chemotherapy (4/45) was significantly lower than in patients with *HER2*-negative GC: the median was 156 and 317 days, respectively (hazard ratio 0.49; 95 % confidence interval 0.16–1.47; $p = 0.0006$). There was no correlation between the presence of the alteration and ORR ($p = 1.0$). Progression-free survival in GC patients with *KRAS* amplification (3/19) was significantly lower comparing with patients without it: the median was 98 and 327 days, respectively (hazard ratio 0.29; 95 % confidence interval 0.07–1.19; $p < 0.0001$). There was no association between an increase in *KRAS* copy number and objective response rate ($p = 1.0$). For microsatellite instability and other studied markers no statistically significant correlation with progression-free survival and objective response rate was found ($p > 0.05$).

Conclusion. The presence of *HER2* and *KRAS* amplification have been shown as promising predictive markers of the treatment failure in patients treated with perioperative FLOT chemotherapy for locally advanced resectable GC.

Keywords: gastric cancer, FLOT chemotherapy, predictive markers

For citation: Oganyan K.A., Musaelyan A.A., Lapin S.V. et al. Molecular markers as predictors of response to perioperative chemotherapy in locally advanced gastric cancer. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = Advances in Molecular Oncology 2023;10(1):40–8. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2023-10-1-40-48

ВВЕДЕНИЕ

Рак желудка (РЖ) характеризуется агрессивным течением и занимает одну из ведущих позиций в структуре онкологической смертности [1]. Несмотря на определенный прогресс в лекарственном лечении данной патологии, в частности, применение химиотерапии (ХТ) в режиме FLOT и традиционные подходы демонстрируют ограниченную эффективность в отношении общей выживаемости (ОВ) [2, 3].

Характерным признаком РЖ является его выраженная гетерогенность, поэтому важно применять прогностическую классификацию с целью персонализированного подхода к ведению пациентов [4]. Традиционные классификации на основе клинических и морфологических данных не обладают значительной прогностической ценностью вследствие того, что не отражают молекулярно-биологические особенности опухоли. Молекулярные классификации, которые учитывают биологию опухоли, способствуют разработке новых подходов к определению прогноза пациентов и выбору терапевтических опций [5]. Одна из таких классификаций была предложена экспертами

Атласа ракового генома (Cancer Genome Atlas, TCGA). Она является наиболее широко изученной и включает следующие подтипы РЖ: микросателлитная нестабильность (МСН), хромосомная нестабильность, вирус Эпштейна–Барр и геномная стабильность [6].

Микросателлитная нестабильность отражает нарушение системы репарации ошибочно спаренных нуклеотидов (mismatch repair system, MMR) [7]. Дефектная система MMR способствует накоплению большого количества неоантигенов, что приводит к появлению особого воспалительного микроокружения опухоли и ее высокой иммуногенности [8]. Это служит причиной того, что РЖ с МСН обладает высокой чувствительностью к ингибиторам контрольных точек иммунного ответа [9]. В мае 2017 г. Управление по контролю над качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA) одобрило пембролизумаб для лечения пациентов с нерезектабельными или метастатическими солидными опухолями с МСН, в том числе и для больных РЖ.

Амплификация гена *HER2* представляет собой отдельную немногочисленную подгруппу РЖ, которая

входит в состав опухолей с хромосомной нестабильностью [6]. Статус *HER2* наряду с МСН и экспрессией PD-L1 (programmed death-ligand 1) является маркером, который в настоящее время определяется в клинической практике для таргетной терапии РЖ [10–15]. Анти-*HER2*-терапия (*HER2* – human epidermal growth factor receptor 2) впервые позволила улучшить показатели ОВ у пациентов с распространенным РЖ [15]. Помимо изменения копийности гена *HER2* для подтипа с хромосомной нестабильностью, который является наиболее многочисленным подтипом РЖ, характерны также изменения копийности других генов, кодирующих тирозинкиназные рецепторы, в частности, *EGFR*, *FGFR2* и *MET*, в отношении которых в настоящее время активно разрабатывается таргетная терапия [6].

Несмотря на очевидную ценность предикторов ответа на иммунотерапию и разработки таргетной терапии, область их применения ограничена небольшим числом случаев заболевания с метастатическим поражением с соответствующими мутациями. В ряде исследований было показано, что эти альтерации могут иметь предиктивную значимость и в определении эффективности ХТ, которая остается стандартом системной терапии [16]. В частности, в настоящее время периоперационная ХТ в режиме FLOT является общепринятым подходом к лечению местно-распространенного РЖ [17]. Однако более 50 % пациентов нечувствительны к данной терапии [18]. При этом приходится подвергать таких больных ненужной токсичности и откладывать оперативное вмешательство. Поэтому актуальным является идентификация молекулярно-генетических предикторов ответа на ХТ по схеме FLOT, что позволит оптимизировать подходы к лечению пациентов с местно-распространенным РЖ.

Целью исследования является оценка клинимо-морфологических особенностей МСН, амплификации гена *HER2*, изменения копийности генов, а также их взаимосвязи с ответом на ХТ по схеме FLOT у пациентов с местно-распространенным РЖ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 185 пациентов с верифицированным РЖ. В каждом случае исследовали блоки тканей, которые были фиксированы 10 % забуференным формалином, дегидратированы в изопропиловом спирте и залиты в парафин. В табл. 1 представлены клинимо-морфологические данные всех пациентов.

У всех больных исследован статус МСН и *HER2* с последующим выявлением распространенности и клинимо-морфологических особенностей опухоли. Кроме того, у 45 пациентов определено изменение копийности генов *FGFR1*, *FGFR2*, *MYC*, *CDK6*, *MET*, *CCND1*, *EGFR*, *PIK3CA*, *KLF5* и *KRAS*.

Из 185 пациентов, включенных в исследование, у 64 заболевание было представлено местно-распро-

страненным резектабельным ($T_{\text{любая}} N+M0$) РЖ. Им проведена субтотальная резекция желудка или гастрэктомия с лимфаденэктомией D2. Из них 45 пациентам ($T3-4N+M0$) назначена периоперационная ХТ по схеме FLOT. При этом только у 19 больных, которым выполнялась ХТ в периоперационном режиме, было выявлено изменение копийности генов. Подробный дизайн исследования представлен на рис. 1.

Таблица 1. Клинико-морфологические данные пациентов, включенных в исследование

Table 1. Clinico-morphological data of patients included in the study

Показатель Parameter	Значение показателя Indicator value
Пол, n (%): Gender, n (%): женщины female мужчины male	85 (45,9) 100 (54,1)
Возраст, лет: Age, years: медиана (интерквартильный размах) median (interquartile range) <60, n (%) >60, n (%)	64 (57–69) 65 (35,1) 120 (64,9)
Локализация опухоли, n (%): Tumor localization, n (%): проксимальная proximal дистальная distal неуточненная unspecified	35 (18,9) 111 (60,0) 39 (21,1)
Стадия, n (%): Stage, n (%): I–II III–IV	41 (22,2) 144 (77,8)

Оценка ответа на терапию проводилась путем измерения размера опухоли с помощью компьютерной томографии согласно критериям оценки ответа солидных опухолей (Response evaluation criteria in solid tumours 1.1, RECIST 1.1). Контрольными точками исследования были частота объективных ответов (процент пациентов с полным и частичным ответами после терапии по критериям RECIST 1.1) и выживаемость без прогрессирования (ВБП). Медиана наблюдения составила 6,1 мес.

Экстракция ДНК. Макродиссекцию образцов проводили с целью увеличения опухолевой клеточности для последующего выделения ДНК. Экстракция ДНК из парафиновых блоков была выполнена колоночным методом, как было описано ранее в работе D.I. Gomez и соавт. [19].

Микросателлитная нестабильность. Наличие МСН определялось путем фрагментного анализа с помощью

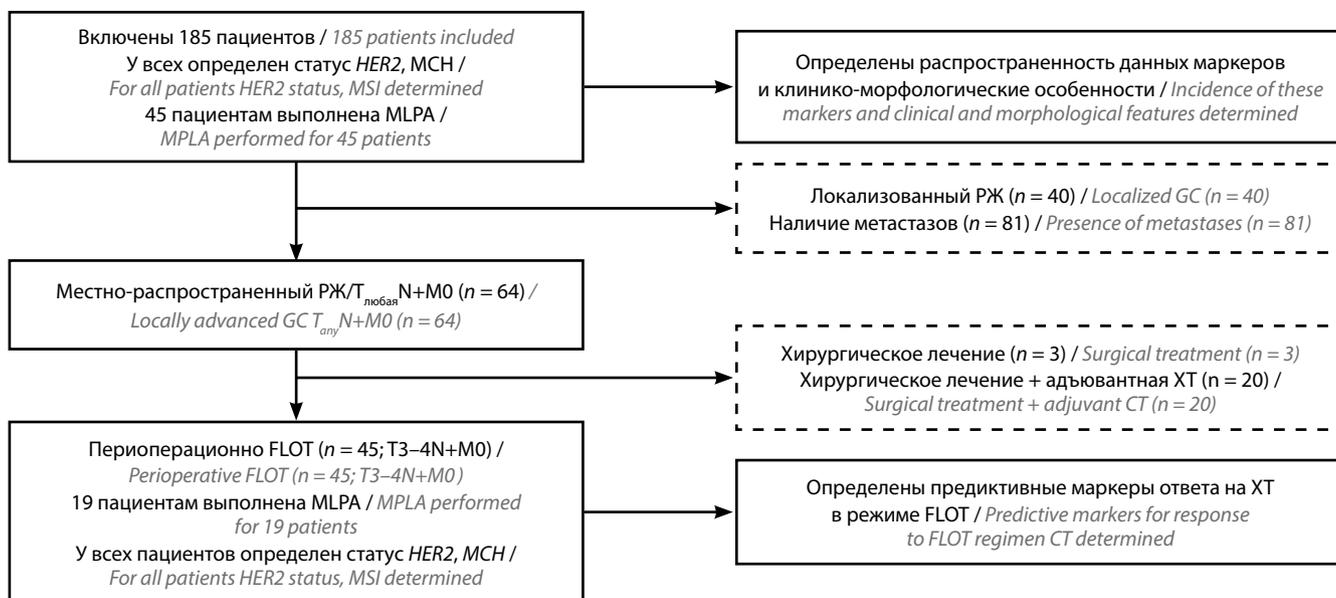


Рис. 1. Дизайн исследования. MCH – микросателлитная нестабильность; MLPA – метод мультиплексной лигазозависимой амплификации зондов; РЖ – рак желудка; ХТ – химиотерапия

Fig. 1. Study design. MSI – microsatellite instability; MLPA – multiplex ligation-dependent probe amplification; GC – gastric cancer; CT – chemotherapy

панели, содержащей 5 поли-А-моноклеотидных повторов: NR-24, NR-27, NR-21, BAT-25, BAT-26. Условия проведения мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) и выбор последовательности праймеров для каждого моноклеотидного маркера осуществляли в соответствии с работой A. Goel и соавт. [20]. Для ПЦР применяли реактивы из набора Encyclo Plus PCR kit («Евроген», Россия). Идентификация продукта, полученного в ходе ПЦР, осуществлялась с помощью капиллярного электрофореза (использовался генетический анализатор ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems, США)). Впоследствии полученные данные были проанализированы с использованием программного обеспечения GeneMarker (SoftGenetics, США). Микросателлитный маркер считали нестабильным, если его размер отличался от контрольного образца (неопухолевой ткани) более чем на 2 нуклеотида. В случае присутствия ≥ 2 нестабильных маркеров из 5 исследуемых определялось наличие MCH в образце опухоли согласно рекомендациям Европейского общества медицинской онкологии (European Society for Medical Oncology, ESMO). В случае наличия < 2 нестабильных маркеров считалось, что геном опухоли не имеет MCH [21].

Изменение копийности генов. Для определения статуса *HER2* использовали метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (fluorescence *in-situ* hybridization, FISH) в соответствии с рекомендациями Американского общества клинической онкологии/Колледжа американских патологов (American Society of Clinical Oncology, ASCO/College of American Pathologists, CAP) (2018). Изменение копийности генов *FGFR1*, *FGFR2*, *MYC*, *CDK6*, *MET*, *CCND*, *EGFR*, *PIK3CA*, *KLF5*, *KRAS* выявляли с помощью метода мультиплексной лигазо-

зависимой амплификации зондов (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA) с использованием набора SALSA P458 Gastric Cancer (MRC, Нидерланды) согласно рекомендациям производителя с последующей детекцией продуктов фрагментного анализа с использованием генетического анализатора ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems, США) (капиллярный электрофорез).

Статистический анализ. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы GraphPad Prism (версия 9.3.1, GraphPad Software Inc., США). Для анализа количественных признаков, которые в исследовании представлены отклонением от нормального распределения, использовали U-критерий Манна–Уитни, качественных признаков – точный тест Фишера. Исследование показателей выживаемости проводилось с помощью логрангового теста и моделирования методом Каплана–Майера. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Особенности микросателлитной нестабильности. Распространенность MCH составила 4,8 % (9/185) всех случаев РЖ (рис. 2). Средний возраст больных РЖ с MCH оказался равным 71 году, больных с отсутствием MCH – 60 годам соответственно ($p = 0,005$). Также наличие MCH было ассоциировано с более низкой степенью дифференцировки опухоли: среди случаев с MCH опухоли со степенью дифференцировки G_{3-4} составляли 88,9 % (8/9), тогда как среди образцов с отсутствием MCH низкодифференцированные и недифференцированные опухоли наблюдались в 42,0 % (74/176) случаев ($p = 0,011$). Микросателлитная нестабильность была связана с наличием

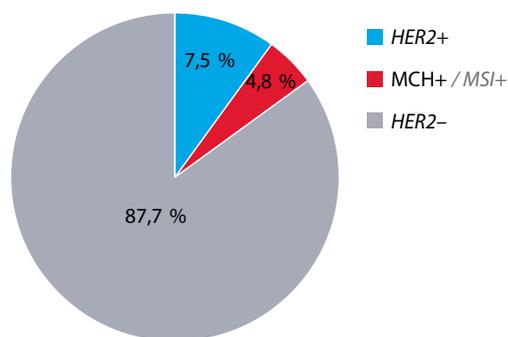


Рис. 2. Распространенность микросателлитной нестабильности (МСН) и амплификации гена *HER2* у пациентов с раком желудка
Fig. 2. Prevalence of microsatellite instability (MSI) and *HER2* gene amplification in patients with gastric cancer

опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (ОИЛ): данный феномен встречался в 66,7 % (6/9) опухолей с МСН и в 12,5 % (22/176) без нее ($p = 0,0004$). Образцы с наличием МСН также характеризовались более высоким предоперационным уровнем СА 72–4 ($p = 0,025$): его среднее значение в группе МСН составило 24,6 ед/мл, а в группе без МСН – 5,2 ед/мл.

Не было выявлено статистически значимых различий между статусом МСН и стадией заболевания, полом, категориями Т и N, наличием периневральной и лимфоваскулярной инвазий ($p > 0,05$). В табл. 2 отражены клиничко-морфологические данные пациентов с РЖ в зависимости от статуса МСН.

Особенности амплификации гена *HER2*. Амплификация гена *HER2* была обнаружена в 7,5 % (14/185) случаев РЖ. Она была ассоциирована с более низкой степенью дифференцировки опухоли. Среди образцов с наличием амплификации опухоли G_{3-4} составляли 71,4 % (10/14), тогда как среди образцов с ее отсутствием – 42,0 % (72/171) ($p = 0,048$). Также амплификация *HER2* характеризовалась метастазированием в регионарные лимфатические узлы: их поражение наблюдалось в 92,9 % (13/14) случаев с наличием данной амплификации и в 70,0 % (120/171) случаев без альтерации ($p = 0,037$).

Не обнаружено статистически значимых различий между амплификацией *HER2* и такими характеристиками, как возраст, локализация первичной опухоли, стадия, локализация метастазов, категория Т, наличие муцинозного компонента, ОИЛ, перстневидных клеток, Крон-подобной реакции, лимфоваскулярной инвазии ($p > 0,05$). В опухолевых образцах не было обнаружено сосуществования МСН и *HER2*. В табл. 3 представлены клиничко-морфологические данные пациентов с РЖ в зависимости от статуса *HER2*.

Особенности изменения копийности генов. У 45 пациентов с РЖ исследованы изменения копийности генов. Наличие амплификации *KRAS* обнаружено в 8,0 % (4/45) случаев, *FGFR2* – в 6,6 % (3/45), а увеличение копийности *CCND1* – в 4,0 % (2/45). Не было достоверной взаимосвязи между наличием данных альтераций и такими клиничко-морфологическими

Таблица 2. Сравнение основных клиничко-морфологических характеристик пациентов с раком желудка в зависимости от статуса микросателлитной нестабильности (МСН)

Table 2. Comparison of main clinical and morphological data of patients with gastric cancer depending on the status of microsatellite instability (MSI)

Показатель Parameter	МСН+, абс. (%) (n = 9) MSI+, abs. (%) (n = 9)	МСН–, абс. (%) (n = 176) MSI–, abs. (%) (n = 176)	<i>p</i>
Пол, <i>n</i> (%): Gender, <i>n</i> (%): женский female мужской male	6 (66,7) 3 (33,3)	78 (44,3) 98 (55,7)	0,304
Медиана возраста, лет Median age, years	71	60	0,005
Классификация по Laugen, <i>n</i> (%): Lauren classification, <i>n</i> (%): кишечный тип intestinal type диффузный тип diffuse type	0 (0,0) 9 (100,0)	56 (31,8) 120 (68,2)	0,059
Стадия, <i>n</i> (%): Stage, <i>n</i> (%): I–II III–IV	1 (11,1) 8 (88,9)	40 (22,7) 136 (77,3)	0,686
Степень дифференцировки, <i>n</i> (%): Grade, <i>n</i> (%): G_{1-2} G_{3-4}	1 (11,1) 8 (88,9)	102 (57,9) 74 (42,1)	0,011
Наличие опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, <i>n</i> (%): Tumor-infiltrating lymphocytes, <i>n</i> (%): да yes нет no	6 (66,7) 3 (33,3)	22 (12,5) 154 (87,5)	0,0004
Наличие перстневидных клеток, <i>n</i> (%): Presence of singlet ring cells, <i>n</i> (%): да yes нет no	4 (44,4) 5 (55,6)	40 (22,7) 136 (77,3)	0,219
Наличие отдаленных метастазов, <i>n</i> (%): Presence of distant metastases, <i>n</i> (%): да yes нет no	2 (22,2) 7 (77,8)	79 (44,9) 97 (55,1)	0,303

Примечание. Здесь и в табл. 3: жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.
Note. Here and in Table. 3: statistically significant differences are highlighted in bold.

Таблица 3. Сравнение основных клинико-морфологических данных пациентов с раком желудка в зависимости от статуса HER2

Table 3. Comparison of main clinical and morphological data of patients with gastric cancer depending on the status of HER2

Показатель Parameter	HER2+, абс. (%) (n = 14)	HER2–, абс. (%) (n = 171)	p
	HER2+, abs. (%) (n = 14)	HER2–, abs. (%) (n = 171)	
Пол, n (%): Gender, n (%):			0,266
женский female	4 (28,6)	80 (46,8)	
мужской male	10 (71,4)	91 (53,2)	
Медиана возраста, лет Median age, years	62	65	0,786
Классификация по Laugen, n (%): Lauren classification, n (%):			0,364
кишечный тип intestinal type	6 (42,8)	50 (29,2)	
диффузный тип diffuse type	8 (57,2)	121 (70,8)	
Поражение регионарных лимфатических узлов: N0 N+	1 (7,1) 13 (92,9)	51 (29,8) 120 (70,2)	0,037
Стадия, n (%): Stage, n (%):			1,0
I–II III–IV	3 (21,4) 11 (78,6)	38 (22,2) 133 (77,8)	
Степень дифференцировки, n (%): Grade, n (%):			0,048
G ₁₋₂ G ₃₋₄	4 (28,6) 10 (71,4)	99 (57,9) 72 (42,1)	
Наличие опухолеинфильтрирующих лимфоцитов, n (%): Tumor-infiltrating lymphocytes, n (%):			1,0
да yes	2 (14,3)	26 (15,2)	
нет no	12 (85,7)	145 (84,8)	
Наличие перстневидных клеток, n (%): Presence of singlet ring cells, n (%):			0,193
да yes	1 (7,1)	43 (25,2)	
нет no	13 (92,9)	128 (74,8)	
Наличие отдаленных метастазов, n (%): Presence of distant metastases, n (%):			1,0
да yes	6 (42,9)	75 (43,9)	
нет no	8 (57,1)	96 (56,1)	

особенностями, как возраст, локализация опухоли, стадия заболевания, категория T, поражение лимфатических узлов, степень дифференцировки, наличие лимфоваскулярной инвазии, муцинозного компонента, ОИЛ, перстневидных клеток, Крон-подобной реакции ($p > 0,05$).

Предиктивные маркеры ответа на химиотерапию в режиме FLOT. Не было показано взаимосвязи между ВБП, наличием объективного ответа и такими клинико-морфологическими особенностями, как возраст, локализация первичной опухоли, степень дифференцировки, наличие муцинозного компонента, ОИЛ, перстневидных клеток, Крон-подобной реакции, лимфоваскулярной инвазии ($p > 0,05$).

Распространенность амплификации *HER2* у пациентов, получавших ХТ в режиме FLOT, составила 8,9 % (4/45). Не наблюдалось взаимосвязи этой аберрации с объективным ответом ($p = 1,0$). При проведении ХТ по схеме FLOT у пациентов с РЖ с амплификацией гена *HER2* ВБП была достоверно ниже, чем у больных с отсутствием данной амплификации: медиана ВБП составила 156 и 317 дней соответственно (отношение рисков (ОР) 0,49; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,16–1,47; $p = 0,0006$) (рис. 3).

Распространенность амплификации *KRAS* у больных РЖ, получавших периоперационную ХТ, составила 15,8 % (3/19). Не отмечалось ассоциации между увеличением копийности этого гена и наличием объективного ответа ($p = 1,0$). У пациентов с наличием амплификации *KRAS* (3/19) показатели ВБП были достоверно ниже по сравнению с аналогичными показателями у пациентов без данной амплификации: медиана ВБП составила 98 и 327 дней соответственно (ОР 0,29; 95 % ДИ 0,07–1,19; $p < 0,0001$) (рис. 4).

При проведении периоперационной ХТ в отношении МСН и других исследованных маркеров (изменения копийности генов *FGFR1*, *FGFR2*, *MYC*, *CDK6*, *MET*, *CCND1*, *EGFR*, *PIK3CA*, *KLF5*) не было выявлено связи с ВБП, а также с частотой объективного ответа на лечение ($p > 0,05$).

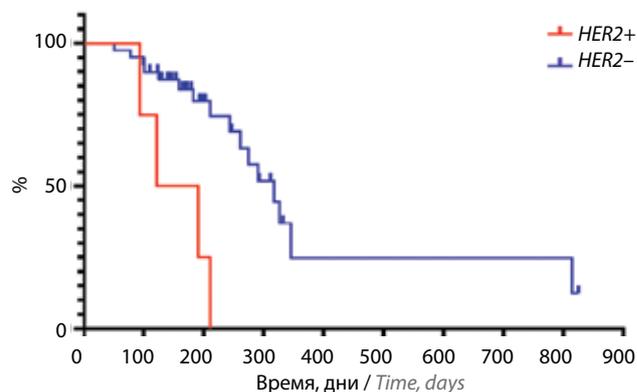


Рис. 3. Выживаемость без прогрессирования в зависимости от HER2-статуса у больных местно-распространенным раком желудка, получавших периоперационную химиотерапию в режиме FLOT

Fig. 3. Progression-free survival by HER2 status in patients with locally advanced resectable gastric cancer receiving perioperative FLOT chemotherapy

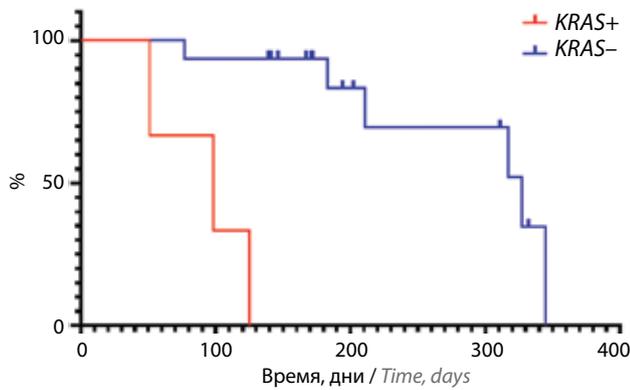


Рис. 4. Выживаемость без прогрессирования в зависимости от статуса *KRAS* у больных местно-распространенным раком желудка, получавших периоперационную химиотерапию в режиме FLOT
Fig. 4. Progression-free survival by *KRAS* status in patients with locally advanced gastric cancer receiving perioperative FLOT chemotherapy

ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании на группе российских больных были проанализированы клиничко-морфологические свойства МСН, амплификации гена *HER2*, изменения копийности генов, характерных для хромосомной нестабильности, а также их взаимосвязь с проводимой ХТ.

По данным нашего исследования распространенность МСН при РЖ составила 5,1 %. При этом, согласно данным исследований ряда зарубежных авторов, распространенность данного феномена при РЖ значительно варьирует и составляет 8–25 %, что может быть обусловлено популяционными особенностями [22–24]. Мы обнаружили, что опухоли с МСН чаще встречаются у более пожилых пациентов. Также наличие данной характеристики в нашем исследовании было ассоциировано с ОИЛ. Аналогичные результаты были показаны в работе А. Bermúdez и соавт. [25, 26]. Нами было продемонстрировано, что наличие МСН ассоциировано с более низкой степенью дифференцировки опухоли. Стоит отметить, что такая взаимосвязь ранее описана в литературе не была, что может быть обусловлено преобладанием в нашей выборке пациентов с диффузным подтипом опухоли по классификации Laugen, который характеризуется более низкой степенью дифференцировки [25, 26].

Амплификация гена *HER2* в нашем исследовании была обнаружена в 8,8 % случаев РЖ. В ряде зарубежных работ показана значительная вариация распространенности данного маркера, которая составляла 6–38 % [27, 28]. Амплификация гена *HER2* была ассоциирована с наличием более низкой степени диф-

ференцировки и поражением регионарных лимфатических узлов, что аналогично данным некоторых зарубежных исследований [27–30]. Также в ряде работ показана связь между наличием амплификации *HER2* и такими характеристиками, как мужской пол, проксимальная локализация опухоли, наличие отдаленных метастазов, обнаружение опухоли на поздних стадиях [29, 31]. Данные различия могут быть обусловлены небольшой группой пациентов, у которых обнаружена амплификация гена *HER2*.

В настоящее время более 50 % пациентов являются резистентными к стандартному подходу в лечении резектабельного местно-распространенного РЖ – периоперационной ХТ в режиме FLOT. Поэтому необходима разработка предиктивных маркеров ответа на данное лечение с целью повышения ее эффективности. В нашем исследовании впервые было показано, что наличие амплификации *HER2* и *KRAS* связано с неэффективностью периоперационной ХТ в режиме FLOT у пациентов с местно-распространенным РЖ. Возможным объяснением такой взаимосвязи является то, что оба маркера ассоциированы с агрессивным течением заболевания независимо от подхода к лечению [32–35]. В частности, в систематическом обзоре, в котором проводился анализ 42 публикаций с общим числом пациентов 12 749, было показано, что наличие амплификации гена *HER2* ассоциировано с низкими показателями ОВ [33].

Такой подход позволит увеличить вероятность эффективности данной терапии, обеспечит наилучшее соотношение между риском развития нежелательных явлений и пользой для пациента. Главным ограничением нашего исследования является малый объем выборки [36].

В настоящее время разрабатываются подходы к повышению эффективности терапии у больных с амплификацией *HER2* [37]. Однако добавление анти-*HER2*-антител, в частности трастузумаба, ассоциировано с высокой токсичностью [38]. Перспективным подходом для лечения данной группы больных является применение новой группы анти-*HER2*-препаратов (конъюгатов), которые при метастатическом РЖ продемонстрировали высокую эффективность с приемлемой токсичностью [39].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Идентификация молекулярных биомаркеров ответа на периоперационную ХТ в режиме FLOT позволит точно прогнозировать химиочувствительность у пациентов с местно-распространенным РЖ.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Wong M.C.S., Huang J., Chan P.S.F. et al. Global Incidence and Mortality of Gastric Cancer, 1980–2018. *JAMA Network Open* 2021;4(7):e2118457. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2021.18457
2. Wang K., Ren Y., Ma Z. et al. Docetaxel, oxaliplatin, leucovorin, and 5-fluorouracil (FLOT) as preoperative and postoperative chemotherapy compared with surgery followed by chemotherapy for patients with locally advanced gastric cancer: a propensity score-based analysis. *Cancer Manag Res* 2019;11:3009–20. DOI: 10.2147/CMAR.S200883.
3. Lin J.-X., Tang Y.-H., Lin G.-J. et al. Association of adjuvant chemotherapy with overall survival among patients with locally advanced gastric cancer after neoadjuvant chemotherapy. *JAMA Network Open* 2022;5:e225557. DOI: jamanetworkopen.2022.5557
4. Gullo I., Carneiro F., Oliveira C., Almeida G.M. Heterogeneity in gastric cancer: from pure morphology to molecular classifications. *Pathobiology* 2018;85(1–2):50–63. DOI: 10.1159/000473881
5. Sanjeevaiah A., Cheedella N., Hester C., Porembka M.R. Gastric cancer: recent molecular classification advances, racial disparity, and management implications. *J Oncol Pract* 2018;14(4):217–24. DOI: 10.1200/JOP.17.00025
6. Zhang W. TCGA divides gastric cancer into four molecular subtypes: implications for individualized therapeutics. *Chin J Cancer* 2014;33(10):469–70. DOI: 10.5732/cjc.014.10117
7. Мусаелян А.А., Назаров В.Д., Будникова А.С. и др. Клинико-морфологический портрет опухолей с микросателлитной нестабильностью. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(2): 52–9. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-52-59
Musaelyan A.A., Nazarov V.D., Budnikova A.S. et al. Clinical and morphological portrait of tumors with microsatellite instability. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2021;8(2):52–9. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-52-59
8. Ballhausen A., Przybilla M.J., Jendrusch M. et al. The shared neoantigen landscape of MSI cancers reflects immunoeediting during tumor evolution. *BioRxiv* 2019:691469. DOI: 10.1101/691469
9. Nebot-Bral L., Coutzac C., Kannouche P.L., Chaput N. Why is immunotherapy effective (or not) in patients with MSI/MMRD tumors? *Bulletin Du Cancer* 2019;106:105–13. DOI: 10.1016/j.bulcan.2018.08.007
10. Muro K., Chung H.C., Shankaran V. et al. Pembrolizumab for patients with PD-L1-positive advanced gastric cancer (KEYNOTE-012): a multicentre, open-label, phase 1b trial. *Lancet Oncol* 2016;17(6):717–26. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)00175-3
11. Marabelle A., Le D.T., Ascierto P.A. et al. Efficacy of pembrolizumab in patients with noncolorectal high microsatellite instability/mismatch repair-deficient cancer: results from the phase II KEYNOTE-158 study. *J Clin Oncol* 2019;38(1):1–10. DOI: 10.1200/JCO.19.02105
12. Le D.T., Kim T.W., van Cutsem E. et al. Phase II open-label study of pembrolizumab in treatment-refractory, microsatellite instability-high/mismatch repair-deficient metastatic colorectal cancer: KEYNOTE-164. *J Clin Oncol* 2019;38(1):11–9. DOI: 10.1200/JCO.19.02107
13. Le D.T., Uram J.N., Wang H. et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med* 2015;372(26):2509–20. DOI: 10.1056/NEJMoa1500596
14. Chao J., Fuchs C.S., Shitara K. et al. Assessment of pembrolizumab therapy for the treatment of microsatellite instability-high gastric or gastroesophageal junction cancer among patients in the KEYNOTE-059, KEYNOTE-061, and KEYNOTE-062 clinical trials. *JAMA Oncol* 2021;7(6):895–902. DOI: 10.1001/jamaoncol.2021.0275
15. Bang Y.-J., van Cutsem E., Feyereislova A. et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy *versus* chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010;376(9742):687–97. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61121-X
16. Cavaliere A., Merz V., Casalino S. et al. Novel biomarkers for prediction of response to preoperative systemic therapies in gastric cancer. *J Gastric Cancer* 2019;19(4):375–92. DOI: 10.5230/jgc.2019.19.e39
17. Лядов В.К., Пардабекова О.А., Лядова М.А. Периоперационная химиотерапия рака желудка: состояние проблемы. Современная онкология 2018;20:56–60. DOI: 10.26442/1815-1434_2018.2.56-60
Lyadov V.K., Pardabekova O.A., Lyadova M.A. Perioperative chemotherapy of stomach cancer: the state of the problem. *Sovremennaya onkologiya = Modern Oncology* 2018;20:56–60. (In Russ.). DOI: 10.26442/1815-1434_2018.2.56-60
18. Giommoni E., Lavacchi D., Tirino G. et al. Results of the observational prospective RealFLOT study. *BMC Cancer* 2021;21:1086. DOI: 10.1186/s12885-021-08768-7
19. Gomez D.I., Mullin C.S., Mora-Guzmán F. et al. Rapid DNA extraction for specific detection and quantitation of Mycobacterium tuberculosis DNA in sputum specimens using Taqman assays. *Tuberculosis* 2011;91(Suppl. 1):S43–8. DOI: 10.1016/j.tube.2011.10.009
20. Goel A., Nagasaka T., Hamelin R., Boland C.R. An optimized pentaplex PCR for detecting DNA mismatch repair-deficient colorectal cancers. *PLoS ONE* 2010;5(2):e9393. DOI: 10.1371/journal.pone.0009393
21. Luchini C., Bibeau F., Ligtenberg M.J.L. et al. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach. *Ann Oncol* 2019;30(8):1232–43. DOI: 10.1093/annonc/mdz116
22. Lorenzi M., Amonkar M., Zhang J. et al. Epidemiology of microsatellite instability high (MSI-H) and deficient mismatch repair (dMMR) in solid tumors: a structured literature review. *J Oncol* 2020;2020:1807929. DOI: 10.1155/2020/1807929
23. Zhu L., Li Z., Wang Y. et al. Microsatellite instability and survival in gastric cancer: A systematic review and meta-analysis. *Mol Clin Oncol* 2015;3(3):699–705. DOI: 10.3892/mco.2015.506
24. Amonkar M., Lorenzi M., Zhang J. et al. Structured literature review (SLR) and meta-analyses of the prevalence of microsatellite instability high (MSI-H) and deficient mismatch repair (dMMR) in gastric, colorectal, and esophageal cancers. *J Clin Oncol* 2019;37:e15074. DOI: 10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.e15074
25. Bermúdez A., Arranz-Salas I., Mercado S. et al. Her2-positive and microsatellite instability status in gastric cancer-clinicopathological implications. *Diagnostics (Basel)* 2021;11(6):944. DOI: 10.3390/diagnostics11060944
26. Puliga E., Corso S., Pietrantonio F., Giordano S. Microsatellite instability in gastric cancer: between lights and shadows. *Cancer Treat Rev* 2021;95. DOI: 10.1016/j.ctrv.2021.102175
27. Roy P.S., Nyodu T., Hazarika M. et al. Prevalence of HER2 expression and its correlation with clinicopathological parameters in gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma in North-East Indian population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2019;20(4):1139–45. DOI: 10.31557/APJCP.2019.20.4.1139
28. Kelly C.M., Janjigian Y.Y. The genomics and therapeutics of HER2-positive gastric cancer—from trastuzumab and beyond. *J Gastrointest Oncol* 2016;7(5):750–62. DOI: 10.21037/jgo.2016.06.10
29. Laboissiere R.S., Buzelin M.A., Balabram D. et al. Association between HER2 status in gastric cancer and clinicopathological features: a retrospective study using whole-tissue sections. *BMC Gastroenterol* 2015;15:157. DOI: 10.1186/s12876-015-0384-1

30. Kasochi C., Julius P., Mweemba I., Kayamba V. Human epidermal growth factor receptor 2 overexpression in gastric and gastro-esophageal junction adenocarcinoma in patients seen at the University Teaching Hospital, Lusaka, Zambia. *Afr Health Sci* 2020;20(4):1857–64. DOI: 10.4314/ahs.v20i4.41
31. Abrahao-Machado L.F., Scapulatempo-Neto C. HER2 testing in gastric cancer: An update. *World J Gastroenterol* 2016;22(19):4619–25. DOI: 10.3748/wjg.v22.i19.4619
32. Kurokawa Y., Matsuura N., Kimura Y. et al. Multicenter large-scale study of prognostic impact of HER2 expression in patients with resectable gastric cancer. *Gastric Cancer* 2015;18(4):691–7. DOI: 10.1007/s10120-014-0430-7
33. Jørgensen J.T., Hersom M. HER2 as a prognostic marker in gastric cancer – a systematic analysis of data from the literature. *J Cancer* 2012;3:137–44. DOI: 10.7150/jca.4090
34. Rehkaemper J., Korenkov M., Quaas A. et al. Amplification of *KRAS* and its heterogeneity in non-Asian gastric adenocarcinomas. *BMC Cancer* 2020;20(1):587. DOI: 10.1186/s12885-020-06996-x
35. Essakly A., Loeser H., Kraemer M. et al. *PIK3CA* and *KRAS* amplification in esophageal adenocarcinoma and their impact on the inflammatory tumor microenvironment and prognosis. *Transl Oncol* 2012;13(2):157–64. DOI: 10.1016/j.tranon.2019.10.013
36. Оганян К., Мусаелян А., Лапин С. и др. Молекулярно-генетические предиктивные маркеры ответа на периоперационную химиотерапию в режиме FLOT при раке желудка. *Вопросы онкологии* 2022;3:341–2. DOI: 10.37469/0507-3758-2022-68-3
37. Hofheinz R.D., Hegewisch-Becker S., Kunzmann V. et al. Trastuzumab in combination with 5-fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin and docetaxel as perioperative treatment for patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive locally advanced esophagogastric adenocarcinoma: A phase II trial of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie Gastric Cancer Study Group. *Int J Cancer* 2021;149(6):1322–31. DOI: 10.1002/ijc.33696
38. Al-Batran S., Haag G., Ettrich T. et al. 1421MO final results and subgroup analysis of the PETRARCA randomized phase II AIO trial: perioperative trastuzumab and pertuzumab in combination with FLOT versus FLOT alone for HER2 positive resectable esophagogastric adenocarcinoma. *Ann Oncol* 2020;31:841–73. DOI: 10.1016/annonc/annonc284
39. Ishii T., Shitara K. Trastuzumab deruxtecan and other HER2-targeting agents for the treatment of HER2-positive gastric cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2021;21(11):1193–201. DOI: 10.1080/14737140.2021.1982698

Вклад авторов

К.А. Оганян: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, оформление иллюстративного материала, статистический анализ, написание текста статьи;
 А.А. Мусаелян: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, статистический анализ, написание текста статьи;
 А.А. Свечкова: обзор публикаций по теме статьи, сбор данных, анализ полученных данных, написание текста статьи;
 Т.В. Купенская, С.В. Лапин: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, научное редактирование;
 А.А. Захаренко, М.А. Беляев: анализ полученных данных, научное редактирование;
 С.В. Орлов: идея и разработка дизайна, научное редактирование, руководство исследованием.

Authors' contributions

К.А. Ogaryan: developing the research design, reviewed relevant literature, design of illustrative material, analysis of the obtained data, statistical analysis, article writing;
 А.А. Musaelyan: developing the research design, reviewed relevant literature, design of illustrative material, analysis of the obtained data, statistical analysis, article writing;
 Т.В. Kupenskaya, S.V. Lapin: developing the research design, reviewed relevant literature, analysis of the obtained data, article writing;
 А.А. Svechkova: reviewed relevant literature, obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, article writing;
 М.А. Belyaev, А.А. Zakharenko: analysis of the obtained data, scientific editing;
 S.V. Orlov: idea and development the research design, scientific editing, research leadership.

ORCID авторов / ORCID of authors

К.А. Оганян / К.А. Ogaryan: <https://orcid.org/0000-0002-2743-0882>
 А.А. Мусаелян / А.А. Musaelyan: <https://orcid.org/0000-0002-7570-2256>
 С.В. Лапин / S.V. Lapin: <https://orcid.org/0000-0002-4998-3699>;
 А.А. Захаренко / А.А. Zakharenko: <https://orcid.org/0000-0002-8514-5377>
 С.В. Орлов / S.V. Orlov: <https://orcid.org/0000-0001-6080-8042>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена в рамках Соглашения Минобрнауки России № 075-15-2021-1065 от 28.09.2021 о предоставлении гранта на реализацию отдельных мероприятий Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 гг.
Funding. The study was performed according to the Agreement of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation No. 075-15-2021-1065 dated September 28, 2021 on the provision of a grant for the implementation of certain activities of the Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies for 2019–2027.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics. The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Ministry of Health of Russia.

All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 08.08.2022. **Принята к публикации:** 14.01.2023.

Article submitted: 08.08.2022. **Accepted for publication:** 14.01.2023.