

# Новый взгляд на молекулярно-генетические особенности рака желудка

А. А. Машуков<sup>2, 3</sup>, С. И. Киркилевский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный институт рака, г. Киев, Украина, <sup>2</sup>Одесский национальный медицинский университет, Украина, <sup>3</sup>КУ «Одесский областной онкологический диспансер», Украина

**Ключевые слова:**

рак желудка, иммуногистохимия, генетические маркеры.

Запорожский медицинский журнал. – 2017. – Т. 19, № 5(104). – С. 684–690

DOI: 10.14739/2310-1210.2017.5.110235

E-mail: mashukster@gmail.com

**Цель работы** – обзор научной литературы, посвященной возможности генетического типирования больных раком желудка на современном этапе развития отечественной молекулярно-генетической лабораторной службы.

**Материалы и методы.** Используемое в работе сочетание молекулярных факторов при раке желудка (РЖ) основывалось на их актуальности в клинических и экспериментальных исследованиях за последние 10 лет. Проводилась оценка частоты их использования в зарубежных и отечественных исследовательских работах, цитируемых по системам PubMed и Google Scholar, а также собственные исследования.

**Результаты.** Признаки генетически-стабильного рака желудка (ГСРЖ) составляли: сочетание низкой, ниже 10 %, экспрессии онкобелка p53, наличие хотя бы слабой экспрессии VEGFR-C, высокий, более 20 %, пролиферативный индекс опухоли. Хромосомно-нестабильные опухоли характеризовались не только наличием позитивной экспрессии crbB2, но и более чем 10 % экспрессией онкобелка p53 и полным отсутствием экспрессии VEGFR-C. Микросателлитно-нестабильный рак желудка (МНРЖ) характеризовался негативной экспрессией онкобелка crbB2, положительным p53, отсутствием VEGFR-C. Эпштейна–Барр вирус-ассоциированный РЖ (ЭБВАРЖ) характеризовался как отсутствием белка-индикатора VEGFR-C, так и наличием позитивной экспрессии crbB2 в сочетании с низкой, ниже 10 %, экспрессией онкобелка p53.

**Выводы.** Понимание природы различных генетических вариантов РЖ делает возможным два основных вида индивидуализации комплексного лечения: индивидуализация химиотерапии и персонификация хирургического воздействия на больного и его заболевание.

**Ключові слова:**

рак шлунка, імуногістохімія, генетичні маркери.

Запорожський медичний журнал. – 2017. – Т. 19, № 5(104). – С. 684–690

## Новий погляд на молекулярно-генетичні особливості раку шлунка

А. О. Машуков, С. І. Кіркільєвський

**Мета роботи** – здійснити літературний огляд, що присвячений можливості генетичного типування хворих на рак шлунка на сучасному етапі розвитку вітчизняної молекулярно-генетичної лабораторної служби.

**Матеріали та методи.** Поєднання молекулярних факторів при раку шлунка (РШ), що використали в роботі, ґрунтувалось на їхній актуальності у клінічних та експериментальних дослідженнях при РШ за останні 10 років. Оцінювалась частота їх використання в закордонних і вітчизняних дослідженнях, котрі цитували по системах PubMed і Google Scholar, а також власні дослідження.

**Результати.** Ознаками генетично-стабільного раку шлунка (ГСРШ) вважали: поєднання низької, нижчої за 10 %, експресії онкобілка p53, наявність хоча б слабкої експресії VEGFR-C, високий, понад 20 %, проліферативний індекс пухлини. Хромосомно-нестабільні пухлини характеризувались не тільки наявністю позитивної експресії crbB2, але й більш ніж 10 % експресією онкобілка p53 та повною відсутністю експресії VEGFR-C. Микросателітно-нестабільний РШ (МНРШ) характеризувався негативною експресією онкобілка crbB2, позитивним p53, відсутністю VEGFR-C. Епштейна–Барр вірус-асоційований РШ (ЕБВАРШ) характеризувався як відсутністю білка-індикатора VEGFR-C, так і наявністю позитивної експресії crbB2 в поєднанні з низькою, нижчою за 10 %, експресією онкобілка p53.

**Висновки.** Розуміння природи різних генетичних варіантів РШ уможливило два основних види індивідуалізації комплексного лікування: індивідуалізацію хіміотерапії та персоніфікацію хірургічного впливу на пацієнта та його захворювання.

**Key words:**

stomach neoplasms, immunohistochemistry, genetic markers.

Zaporozhye medical journal 2017; 19 (5), 684–690

## A new view on molecular genetic features of stomach cancer

A. A. Mashukov, S. I. Kirkilevsky

**The purpose** of this article was to write a literature review on the possibility of genetic typing of patients with stomach cancer at the current stage of the domestic molecular genetic laboratory service development.

**Materials and methods.** The combination of molecular factors in gastric cancer (GC) used in the work was based on their relevance in clinical and experimental studies in case of GC over the last 10 years. The frequency of their use in foreign and domestic research works cited by PubMed and Google Scholar Systems, as well as our own research, was estimated.

**Results.** Signs of genetically-stable stomach cancer (GSGC) were: a combination of low, below 10 %, p53 oncoprotein expression, the presence of at least weak VEGFR-C expression, a high, more than 20 %, proliferative tumor index. Chromosomal-unstable tumors were characterized not only by the presence of positive expression of crbB2, but also by more than 10 % expression of p53 oncoprotein and complete absence of VEGFR-C expression. Microsatellite-unstable GC (MUGC) was characterized by negative expression of the oncoprotein crbB2, positive p53, lack of VEGFR-C. Epstein–Barr virus-associated GC (EBVAGC) was characterized by the absence of the VEGFR-C indicator protein and by the presence of crbB2 positive expression, in combination with a low, below 10 % expression, of the p53 oncoprotein.

**Conclusions.** Understanding the nature of the GC various genetic variants makes possible two basic types of complex treatment individualization: the individualization of chemotherapy and the personification of the surgical modalities.

Ещё десять лет назад пришествие иммунобиологической или, лучше сказать, генетической классификации рака молочной железы оставалось прелюбопытной научной новинкой, но не более того. Кому понадобилась эта новая классификация? Большинство практикующих маммологов относились к ней с осторожностью на фоне уже существующих примерно 5–6 вполне работоспособных классификаций, удовлетворявших самого требовательного практика. Практическая же значимость разделения рака грудной железы на люминальные типы А и В, базальноподобный и *her2*<sup>new</sup>-позитивный раки оставалась понятной в большей степени лишь узкому кругу онкологов-химиотерапевтов. Для хирургов-маммологов, напротив, было понятнее использовать гистологический термин «комедокарцинома», чем признать прогностический вес идентифицированного, например, базальноподобного рака.

Но всё меняется: понимание биологии рака молочной железы (РМЖ) теперь является важным фактором, определяющим стандарты как химио- и таргетной терапии, так и хирургических подходов, задавая темп самой индивидуализации комплексного онкологического лечения. И если раньше особенностью индивидуализации лечения рака грудной железы было «простое» понимание наличия – отсутствия стероидных (эстроген- или прогестерон-позитивные опухоли) либо белковых (*her2*<sup>new</sup>) рецепторов, то теперь ранее довольно разношёрстная иммуногистохимическая и гистологическая мозаика создаёт стройную картину биологии РМЖ. Понятие «рецепторный статус опухоли» теперь уже не отражает всю полноту картины биологии опухоли, привнесённую классификацией. Теперь это уже не классификация опухолей на «рецептор-позитивные» и «рецептор-негативные», а новое отношение к существующим методам лечения и отбору пациентов.

Естественно, категоризация, понимание существования этих биологических форм рака грудной железы не вытекли из практики определения рецепторного статуса опухоли. Этому предшествовали годы экспериментальных лабораторных и клинических исследований, сложных генетических тестов тысяч больных, прежде чем 4 указанных варианта заняли должное место в «пантеоне» клинических тестов. И определение рецепторного статуса, как и FISH-метод определения статуса наличия экспрессии гомологов рецепторов эпидермального фактора роста, являются лишь верхушкой айсберга, основание которого спрятано в дебрях лабораторной «кабинетной» науки. Успех и быстрое триумфальное шествие данной классификации РМЖ вдохновили сотни исследователей по всему миру на поиск, «нащупывание» подобных подходов для индивидуализации других, не менее частых и при этом более опасных видов рака. Одним из них, несомненно, является рак желудка.

## Цель работы

Провести обзор научной литературы, посвящённой возможности генетического типирования больных раком желудка на современном этапе развития отечественной молекулярно-генетической лабораторной службы. Отличительная особенность рака желудка – полное отсутствие на сегодняшний день обнадеживающего гене-

тического или молекулярного теста, который бы являлся надёжным вариантом скрининга. Три базовых маркера биологии РЖ: CDH1, MLH1, BRCA1 – не могут быть использованы как метод раннего выявления заболевания. Отличие наследственного рака от спорадического – в потере гетерозиготности в результате мутации второго аллеля в гене наследуемого рака. Геном наследственного рака передаётся от родителей с уже наличествующей точечной мутацией онкогена, и приобретённая точно такая же мутация (обычно делеция или транслокация) второго аллеля гена (в гомологичном локусе) приводит к активации онкогена.

Примерами раков внутренних органов, при которых уже имеется разработанный и внедрённый в практику эпигенетический способ раннего выявления, являются рак толстой кишки (европейский тест Epi proColon® для выявления в кровотоке aberrантно метилированного гена *Septin9*) и рак предстательной железы (тест Mi-Prostate Score для выявления фрагмента РНК гена *ПСА 3 + РНК*, продуцирующаяся в случае аномального слияния двух генов: *TMPRSS2* и *ERG*). Введён термин «острый колоректальный рак» для описания тех случаев, когда метилированный *Septin9* выделяется опухолью в кровотоке [29]. Аналогичный американский тест раннего выявления колоректального рака (КРР) основан на определении в кале метилированного гена *VIM*. Данные методы можно назвать примерами индивидуализации диагностики различных видов рака. Другими ПЦР-маркерами для исследования крови являются SFRP2, THDB, SBC2, для исследования кала – FBN1.

Раки кожи, молочной железы не нуждаются в подобной форме скрининга, так как доступны другим формам обследования (маммографии, дерматоскопии и так далее).

Индивидуализация поведения опухоли – ещё одно направление подобного рода исследований. Например, для КРР уже известно, что точечные разрывы локуса 11.2 в коротком плече 17 хромосомы обуславливают склонность к метастазированию в печень. Потеря длинного плеча 18 хромосомы – плохой прогноз. Потеря гена *SMAD* – большая склонность к лимфогенному метастазированию и плохой прогноз, резистентность к терапии 5-ФУ. Спорадическая мутация гена *APC* (наследственная мутация носит название синдрома Гарднера) – худшая общая выживаемость. Потеря гена *PTEN* – склонность к развитию гематогенных отдалённых метастазов. Высокая концентрация TP53 (продукт гена *p53*) в тканях опухоли – плохой прогноз. Ценность эффекта микросателлитной нестабильности в том, что он является своеобразным «островом свободы» – единственной мутацией, улучшающей прогноз и потому делающей её перспективной для более агрессивной хирургии, так как эти больные имеют существенно лучший прогноз. Большинство же известных мутаций, напротив, ухудшают опухолевый прогноз, например:

p14, RASSF1A и APC;

p16;

HOPX-β;

Мутация генов экстрацеллюлярного матрикса *IGFBP3*, *EVL*, *CD109*, *FLNC*;

IGF2 hypomethylation;

МикроРНК miR-34b/c, miR-126, miR-128.

Таблица 1. Сочетание 2 и более факторов поиска по PubMed

Gastric cancer	her2/new	p53	VEGF	Ki-67
her2/new	–	23	38	10
p53	23	–	60	206
VEGF	38	60	–	33
Ki-67	10	206	33	–

Вторым известным на сегодняшний день примером маркера «перспективной онкохирургии» являются белки группы Polycomb (SFRP1, MYOD1, HIC1, SLIT2). Этот маркер благоприятного прогноза, к сожалению, работает только у CIMP-негативных (CpG – метилированный фенотип: CpG island mutilated phenotype) мужчин, поэтому его применение ограничено и всегда будет только дополнением к MSI. Белки Polycomb (от английского comb – расчёска) ответственны за защиту промоторных областей ДНК.

Как говорилось выше, количество «перспективных» маркеров прогноза при РЖ резко ограничено. Наряду с широко известными P53, CA 19-9, p53, VEGF, Ki-67, her2/new (табл. 1) в настоящее время экспериментально подтверждена эффективность микроРНК (miR-20a, miR-25, miR-93, miR-103, miR-106a, miR-106b, miR-130, miR-155, miR-221 и miR-222) и гипометилирование ДНК (Sox 17) как маркеры прогноза РЖ у уже заболевшего спорадическим раком желудка больного. CDH1, MLH1, BRCA1 как маркеры прогноза при спорадических рака почти не используются при РЖ. BRCA1 используется как маркер высокой вероятности возникновения так называемого тройного негативного РМЖ, а также как маркер платинорезистентности при раке яичников. CDH1, MLH1, BRCA1 могут в будущем использоваться как маркеры высокой вероятности возникновения РЖ в течение жизни (грядущее рутинное полноэкзомное секвенирование 1 раз в жизни конкретного здорового индивидуума для установления склонности к тем или иным болезням или причинам смерти – «однократный пожизненный генетический скрининг»). Поэтому эти виды наследственного рака носят чьё-либо имя: Наполеона, Линча, Анджелины Джолли. Метилирование CDH1 может быть потенциально использовано как маркер прогноза РЖ.

Терашима и соавт. установили, что her2-позитивный РЖ имеет лучшие показатели безрецидивной и общей выживаемости в сравнении с her2-негативным. Ким и соавт. путём изучения выживаемости, рассчитанной по методу Кокса при различной экспрессии маркеров (EGFR, VEGF, VEGF-D, VEGFR-2, VEGFR-3, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1 и TGF- $\beta$  RII), установили, что VEGF-D может быть использован как фактор прогноза, и его высокая экспрессия связана с худшими показателями общей выживаемости больных. Таким образом, наряду с третьим иммуногистохимическим маркером p53 (о нём, точнее, о его белке TP53, написано выше), все они могут быть использованы как факторы течения и прогноза заболевания, так и факторы индивидуализации терапии (об этом будет написано далее). Сочетание данных видов маркеров имеет потенциал типирования молекулярных (эпигенетических) форм рака желудка, подобно тому, как иммуногистохимические маркеры РМЖ помогают эпигенетически типировать рак грудной железы. А типирование РЖ откроет путь к индивидуализации

персонализации хирургического лечения.

Таким образом, за исключением определения CA 72-4, P53, CA 19-9, рутинно определяемых маркеров, прогноза при РЖ не существует. Имеются сообщения об экспериментальном определении микроРНК в серозной жидкости (miR-1, miR-20a, miR-27a, miR-34, miR-196a, miR-378, miR-221, miR376c, miR-423-5p), плазме крови (let-7a, miR-17-5p, miR-21, miR-106a/b, miR-199a-3p, miR-218, miR-223, miR-370, miR-451, miR-486), желудочном соке (miR-21, miR-106a, miR-129, miR-421).

Имеются свидетельства об участии *H. pylori* в «неправильном» гиперметилировании ДНК как механизме канцерогенеза. Завершая тему метилирования, нужно добавить, что оно играет такую же важную роль для понимания диагностических маркеров, как фосфорилирование – для лечебных (достаточно отметить, что фосфорилированием занимаются, например, тирозиновые киназы). Ингибиторы фосфорилаз (другое название тирозинкиназ) ныне широко используются для таргетной терапии.

Материалы и методы, которые мы использовали для проведения литературного анализа.

Используемое в работе сочетание молекулярных факторов при РЖ основывалось на их актуальности в клинических и экспериментальных исследованиях при РЖ за последние 10 лет. Проводилась оценка частоты их использования в зарубежных и отечественных исследовательских работах, цитируемых по системам PubMed и Google Scholar.

При анализе данных через поисковую систему PubMed и Google Scholar получено следующее количество поисковых запросов:

gastric cancer her2/new – 165 (189) ссылок,  
gastric cancer p53 – 2102 (210 000) ссылки,  
gastric cancer VEGFR – 263 (19800) ссылки,  
gastric cancer VEGF-C – 137 (9960) ссылок,  
gastric cancer Ki-67 – 733 (31300) ссылки.

В скобках указано количество ссылок на предмет по системе Google Scholar.

Таким образом, выбранное сочетание ИГХ маркеров в изучаемой теме «рак желудка» представлялось оригинальным и в то же время актуальным. Нет исследования, обозначенного в системах поиска PubMed и Google Scholar, которое включало бы все 4 указанных гистохимических критерия при раке желудка. Это несколько сомнительная методика доказательства степени научной новизны, но за неимением лучшей использовали её.

Ki-67 – ядерный антиген, окраска антителами на который имеется в случае наличия клеток, находящихся в пролиферативной фазе клеточного цикла ( $G_1$ , S,  $G_2$ , M – кроме  $G_0$ ). Он также считается митотическим индексом. Renault-Llorca установила [19], что больные, опухоли которых экспрессируют Ki-67 больше, чем у 50 % клеток, имеют значительное развитие рецидива заболевания (не местного, а именно клинического рецидива). В нашем исследовании положительной считалась экспрессия у более чем 20 % клеток. Использованный реактив – моноклональные антитела MIB-1.

Рецептор VEGFR-3 и его сигнальная молекула VEGF-C ассоциированы с очень плохим прогнозом при раке желудка [21]. Наконец, VEGFR-3 является не обычным маркером того дефектного неангиогенеза,

который происходит в опухоли (образование сосудов без перicyтов, только эндотелиоциты). VEGFR, так же как и Ki-67, не может быть использован в качестве фактора прогноза терапии: назначение бевацизумаба не требует выполнения данного анализа [20]. VEGFR-3 (VEGF-C) является фактором, который может быть использован для анализа процесса образования новых лимфатических сосудов в самой опухоли и вокруг неё – так называемого лимфангиогенеза [22–24]. В нормальной ситуации VEGFR-3 экспрессируется эндотелием ранних эмбрионов.

Для иммуногистохимической окраски VEGF-C (реактив KLT 9) были использованы парафиновые блоки. Приготавливались тонкие срезы, которые обрабатывались раствором 0,3 % перекиси водорода в течение 10 минут при комнатной температуре. Для обнаружения антигена срезы обрабатывались раствором цитрата натрия с pH 6.0 и помещались в микроволновую печь. В течение 12 часов при температуре 4 °C во влажной среде обрабатывались первичными антителами: использовались козы поликлональные VEGF-C антитела (1:100, Santa Cruz Biotechnology, USA). Затем срезы были промыты трижды в буферном фосфатном растворе в течение 2 минут и на 30 минут при комнатной температуре помещены в раствор хрен-содержащей пероксидазы (EnVision, DAKO), меченой козыми антителами. Добавляли 3,3-диаминобензидин. Нормальные козы IGG служили негативным контролем для обнаружения VEGF-C. Степень интенсивности прокрашивания классифицировалась по четырём степеням: нет «-», слабое «±», умеренное «+» и сильное «++» (табл. 2).

Особенностью «прочтения» маркера Her2/new при РЖ является определение его как «положительного» даже при экспрессии «+» соответствующего онкобелка.

Процедура иммуногистохимического окрашивания для изучения других маркеров отличается практически только видом используемых антител: для p53 – это Do-7, m7001, DAKO, Glostrup, Denmark, для Her2/new – это c-erbB-2 Oncoprotein, Ki-67 – реактив MIB-1.

## Результаты и их обсуждение

Признаки генетически-стабильного рака желудка (ГСРЖ) составляли: сочетание низкой, ниже 10 %, экспрессии онкобелка p53, наличие хотя бы слабой экспрессии VEGFR-C, высокий, более 20 %, пролиферативный индекс опухоли, высокоместнодеструктурирующий тип микроинfiltrации inf-γ, низкая либо же отсутствующая вообще дифференцировка опухоли, а также все так называемые «диффузные» гистологические типы рака желудка (вплоть до так называемого «кожаного чулка» – linitis plastica). Всего из 221 пациента больные ГСРЖ составляли 43, то есть 19,46 %. Также принимались во внимание мутации в гене *CDH1*. Изучение мутаций в ГТФ-азном белке-ингибиторе RhoA (продукт гена *ARHA*, 3 хромосома) и маркера эпителиально-мезенхимального перехода транслокации *CLDN18-ARHGAP26* не проводилось.

Хромосомно-нестабильный или, по аналогии с подобной классификацией рака грудной железы, her2-положительный РЖ (ХНРЖ), включал 70 больных, что составило 31,67 %. Эти опухоли характеризовались не только нали-

**Таблица 2.** Границы между экспрессией онкобелков, установленные авторами для формирования равнозначных по численности групп больных

	TP53	VEGFR-C	Ki-67	Her2/new
«Положительное» значение	0–10 %	«+++» «+»	0–20 %	«+» «+++» «+++»
«Отрицательное» значение	11–100 %	«±» «-»	21–100 %	«-»

чием позитивной экспрессии *erbB2* (*her2/new*, CD340), но и более чем 10 % экспрессией онкобелка p53 и полным отсутствием экспрессии VEGFR-C. В отличие от рака молочной железы, положительным результатом иммуногистохимического исследования *her2/new* считалось наличие хотя бы одного «плюса» окраски на реактивы CB11, CBE1, 5A2 или 10A7 [3]. Подспорьем в условиях ограниченности количества выполненных молекулярных тестов для идентификации данного вида опухоли являлся так называемый кишечный тип РЖ (по Laugen, 1965). Данный вид РЖ называется также проксимальным, что значительно облегчает его идентификацию в условиях недостаточности молекулярных тестов в работе рядового врача-клинициста.

Микросателлитно-нестабильный РЖ (МНРЖ) характеризовался негативной экспрессией онкобелка *erbB2* (*her2/new* или CD340), положительным p53, отсутствием проявлений лимфангиогенеза и его белка-индикатора VEGFR-C, «плохой гистологией» с наличием перинеуральной, периваскулярной инвазии, низко- и недифференцированных форм РЖ, а также высокоместнодеструктурирующим типом микроинfiltrации inf-γ. Ключевым являлась также иммуногистохимическая идентификация «умолкания» гена *MLH1*, входящего в число генов репарации ДНК (*MLH1*, *MLH3*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS* и так далее – их белковые продукты составляют так называемые «ремонтные тельца» – репейросомы (geraisosome) [2], а сами гены часто описываются аббревиатурой MMR – mismatch repair) при помощи моноклональных антител ES05. Из 221 больного, вошедшего в исследование, 50 больных имели МНРЖ, что составило 22,62 %. МНРЖ, как и нижеследующий Эпштейна–Барр вирус-ассоциированный РЖ, относят к так называемым «некардиальным» ракам желудка, что облегчало их идентификацию в исследуемой группе. MSI связан с гиперметилированием [4,5] наиболее активных участков ДНК – CpG-островков (участков, где цитозин предшествует гуанину). Ещё одним маркером гиперметилирования промоторов (то есть МНРЖ) является продукция клетками слизи [30] – перстневидноклеточный рак. Гистологически можно заподозрить МНРЖ и по выраженной лимфатической инfiltrации тканей опухоли.

И, наконец, Эпштейна–Барр вирус-ассоциированный РЖ (ЭБВАРЖ) характеризовался как отсутствием проявлений лимфангиогенеза и экспрессии его белка-индикатора VEGFR-C, так и наличием позитивной экспрессии *erbB2* (*her2/new*, CD340) в сочетании с низкой, ниже 10 %, экспрессией онкобелка p53. Исследование наличия умолкания гена *CDKN2A*, мутаций PDL1 и PDL2, фосфоинозитол-3-киназы не проводилось. Таких больных было 58, что составило 26,24 %. Учитывая значительное количество молекулярных тестов, не-

**Таблица 3.** Косвенное доказательство актуальности типирования 221 больного РЖ: соотношение групп пациентов коррелирует с эталонным исследованием Канады

	ГСРЖ	ЭБВАРЖ	ХНРЖ	МНРЖ
1. Эталонное исследование Канады	20 %	9 %	49 %	22 %
2. Исследование авторов публикации	19,46 %	26,24 %	31,67 %	22,62 %

обходимых для идентификации ЭБВАРЖ, эта группа была определена в значительной степени методом исключения после идентификации первых трёх. Также существенно облегчала её идентификацию локализация ЭБВАРЖ в желудке (некардиальный рак).

Все остальные категории соответствовали тестам, приведённым в классификации Канады [1].

Персонификация хирургического лечения основана на том факте, что MSI опухоли низкодифференцированы, но, как правило, характеризуются благоприятным течением заболевания. В частности, высокомикросателлитно-нестабильные (MSI-High) опухоли демонстрируют относительно низкую частоту рецидивов после хирургического вмешательства [6,7].

Что касается информативности и нужности данной классификации для индивидуализации химиотерапевтического лечения РЖ, то здесь можно выделить следующие особенности. Большинство доклинических исследований указывают на резистентность MSI опухолей к 5-фторурацилу [8,11]. MSI-статус также ассоциируется с низкой чувствительностью к цисплатину, который очень часто используется в составе химиотерапевтических схем при РЖ [8–11]. У МНРЖ имеется полинечувствительность к цисплатину и карбоплатину, а также препарату третьего поколения оксалиплатину.

Результаты нескольких исследований показали специфическую чувствительность MSI-клеток к ириноктану; показано, что ответ на топоизомеразу I может быть опосредован наличием вторичных мутаций в генах *MRE11* и *Rad50* [9].

Метотрексат является селективным ингибитором MSH2-дефицитных клеток; MLH1-дефектные клетки не показали специфическую чувствительность к этому соединению [10], то есть МНРЖ неоднороден как минимум по этим двум генам, онкобелки которых входят в состав репейросом [2].

Некоторые сообщения предполагают даже худший результат по сравнению с пролеченными пациентами; проведение курсов ПХТ может поставить под угрозу естественный иммунный ответ микросателлитно-нестабильных клеток [8,12,13] к новому поколению PDL ингибиторов.

Учитывая улучшенный прогноз MSI-опухолей, по общему мнению, адьювантная терапия должна быть опущена для MSI [8,14,15].

Анализ подгруппы больных с MSI показал, что пациенты этой специфической категории могут получить выгоду от добавления иринотекана к фторурацилу и лейковорину [16].

Данные об использовании химиотерапии для распространённых MSI-Н раков ограничены несколькими небольшими исследованиями Лян и других [17] и Вруецки и других [18].

Экспрессию Ki-67 в исследовании связывали с чувствительностью к химиотерапии доцетакселом [19].

Высокая экспрессия p53 вообще свидетельствует о перспективности проведения химиотерапии независимо от выбора схемы терапии [30].

Her2neu позиционируется не только как фактор чувствительности к терапии трастузумабом, но и чувствительности терапии эпирубицином, доксорубицином [25], липосомальным доксорубицином.

Представляет значительный интерес тот факт, что процентное соотношение генетических форм РЖ на независимой выборке из 221 больного во многом совпало с соотношением групп в эталонном исследовании [1]. Данные отражены в *таблице 3*.

## Выводы

Понимание природы различных генетических вариантов РЖ делает возможным два основных вида индивидуализации комплексного лечения: индивидуализация химиотерапии и персонификация хирургического воздействия на больного и его заболевание.

**Перспективы дальнейших исследований.** До сих пор не вошедшим в классификацию РЖ является BRCA-ассоциированный рак желудка. Наличие амплификации этого гена при РЖ означает резистентность к химиотерапевтическим режимам на основе таксанов [28] и антрациклинов и чувствительности к митомину C [27], цисплатину и PARP-ингибиторам (поли(АДФ-рибоза)-полимераза) ингибиторам), то есть парибам [26], перспективность иммунотерапии [28]. Her2neu позиционируется не только как фактор чувствительности к терапии трастузумабом, но и чувствительности терапии эпирубицином, доксорубицином [25], липосомальным доксорубицином.

## Список литературы

- [1] Epstein-Barr virus infection as an epigenetic driver of tumorigenesis / A. Kaneda, K. Matsusaka, H. Aburatani, M. Fukuyama // *Cancer Res.* – 2012. – Vol. 72(14). – P. 3445–3450.
- [2] *The Cancer Handbook*, 2 Volume Set, 2nd Edition / Malcolm R. Alison (Editor-in-Chief). – P. 94.
- [3] HER2/neu testing in gastric cancer by immunohistochemistry: assessment of interlaboratory variation / B. Sheffield, J. Garratt, S.E. Kalloger, et al. // *Arch Pathol Lab Med.* – 2014. – Vol. 138(11). – P. 1495–502.
- [4] Clinical Significance of MLH1 Methylation and CpG Island Methylator Phenotype as Prognostic Markers in Patients with Gastric Cancer / K. Shigeyasu, T. Nagasaka, Y. Mori, et al. // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10(6). – e0130409.
- [5] Aberrant gene promoter methylation of p16, FHIT, CRBP1, WWOX, and DLC-1 in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinomas / D. He, Y.W. Zhang, N. N. Zhang, et al. // *Med Oncol.* – 2015. – Vol. 32(4). – P. 92.
- [6] Popat S. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis / S. Popat, R. Hubner, R. S. Houlston // *J Clin Oncol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 609–618.
- [7] Microsatellite instability as a marker of prognosis and response to therapy: a meta-analysis of colorectal cancer survival data / C. Guastadisegni, M. Colafranceschi, L. Ottini, E. Dogliotti // *Eur J Cancer.* – 2010. – Vol. 46. – P. 2788–2798.
- [8] Mismatch repair deficient colorectal cancer in the era of personalized treatment / M. Hewish, C. J. Lord, S. A. Martin, et al. // *Nat Rev Clin Oncol.* – 2010. – Vol. 7. – P. 197–208.
- [9] Chemotherapeutic agents for colorectal cancer with a defective mismatch repair system: the state of the art / A. M. Valentini, R. Armentano, M. Pirrelli, M. L. Caruso // *Cancer Treat Rev.* – 2006. – Vol. 32. – P. 607–618.
- [10] Papouli E. Dependence of the cytotoxicity of DNA-damaging agents on the mismatch repair status of human cells / E. Papouli, P. Cejka, J. Jiricny // *J. Cancer Res.* – 2004. – Vol. 64. – P. 3391–3394.
- [11] Yamane K. BRCA1 activates a G2-M cell cycle checkpoint following 6-thioguanine-induced DNA mismatch damage / K. Yamane, J. E. Schupp, T. J. Kinsella // *Cancer Res.* – 2007. – Vol. 67. – P. 6286–6292.
- [12] Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from

- flourouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer / C. M. Ribic, D. J. Sargent, M. J. Moore, et al. // *N Engl J Med.* – 2003. – Vol. 349. – P. 247–257.
- [13] Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer / D. J. Sargent, S. Marsoni, G. Monges, et al. // *J Clin Oncol.* – 2010. – Vol. 28. – P. 3219–3226.
- [14] Sinicrope F. A. Clinical implications of microsatellite instability in sporadic colon cancers / F. A. Sinicrope, D. J. Sargent // *Curr Opin Oncol.* – 2009. – Vol. 21. – P. 369–373.
- [15] de la Chapelle A. Clinical relevance of microsatellite instability in colorectal cancer / A. de la Chapelle, H. Hampel // *J Clin Oncol.* – 2010. – Vol. 28. – P. 3380–3387.
- [16] Microsatellite instability predicts improved response to adjuvant therapy with irinotecan, fluorouracil, and leucovorin in stage III colon cancer: Cancer and Leukemia Group B Protocol 89803 / M. M. Bertagnoli, D. Niedzwiecki, C. C. Compton, et al. // *J Clin Oncol.* – 2009. – Vol. 27. – P. 1814–1821.
- [17] High-frequency microsatellite instability predicts better chemosensitivity to high-dose 5-fluorouracil plus leucovorin chemotherapy for stage IV sporadic colorectal cancer after palliative bowel resection / J. T. Liang, K. C. Huang, H. S. Lai, et al. // *Int J Cancer.* – 2002. – Vol. 101. – P. 519–525.
- [18] Relationship between microsatellite instability, response and survival in palliative patients with colorectal cancer undergoing first-line chemotherapy / W. M. Brueckl, C. Moesch, T. Brabletz, et al. // *Anticancer Res.* – 2003. – Vol. 23. – P. 1773–1777.
- [19] Ki67 expression and docetaxel efficacy in patients with estrogen receptor-positive breast cancer / F. Penault-Llorca, F. André, C. Sagan, et al. // *J Clin Oncol.* – 2009. – Vol. 27(17). – P. 809–815.
- [20] Decreased peritumor VEGF expression could be a predictor of responsiveness to first-line FOLFIRI plus bevacizumab in mCRC patients / H. L. Tsai, C. H. Lin, C. W. Huang, et al. // *Int J Clin Exp Pathol.* – 2015. – Vol. 8(2). – P. 1900–10.
- [21] VEGF-C expression is associated with the poor survival in gastric cancer tissue / C. Weiguo, F. Rong, Y. Weiping, W. Yunlin // *Tumor Biology.* – 2014. – Vol. 35. – Issue 4. – P. 3377–3383.
- [22] Expressions of COX-2 and VEGF-C in gastric cancer: correlations with lymphangiogenesis and prognostic implications / H. F. Gou, X. C. Chen, J. Zhu, et al. // *J Exp Clin Cancer Res.* – 2011. – Vol. 30(1). – P. 14.
- [23] Expression of Vascular Endothelial Growth Factor C and D (VEGF-C and -D) is an Important Risk Factor for Lymphatic Metastasis in Undifferentiated Early Gastric Carcinoma / I. Makoto, K. Joji, K. Shinsuke, N. Hirokazu // *Japanese Journal of Clinical Oncology.* – 2003. – Vol. 33. – Issue 1. – P. 21–27.
- [24] Role of VEGF-C and VEGF-D in lymphangiogenesis in gastric cancer / Y. Yonemura, Y. Endo, K. Tabata et al. // *International Journal of Clinical Oncology.* – 2005. – Vol. 10. – Issue 5. – P. 318–327.
- [25] HER2 Overexpression and Doxorubicin in Adjuvant Chemotherapy for Resectable Breast Cancer / A. Moliterni, S. Ménard, P. Valagussa, et al. // *Journal of Clinical Oncology.* – 2003. – Vol. 21. – №3. – P. 458–462.
- [26] Munroe M. Olaparib for the treatment of BRCA-mutated advanced ovarian cancer / M. Munroe, J. Kolesar // *Am J Health Syst Pharm.* – 2016. – Vol. 73(14). – P. 1037–41.
- [27] Evidence for clinical efficacy of mitomycin C in heavily pretreated ovarian cancer patients carrying germ-line BRCA1 mutation / V. M. Moiseyenko, V. A. Chubenko, F. V. Moiseyenko, et al. // *Med Oncol.* – 2014. – Vol. 31(10). – P. 199.
- [28] Pembrolizumab in Patients With Advanced Triple-Negative Breast Cancer: Phase Ib KEYNOTE-012 Study / R. Nanda, L. Q. Chow, E. C. Dees, et al. // *J Clin Oncol.* – 2016. – Vol. 34. – Issue 21. – P. 2460–7.
- [29] Epigenomics AG: Darmkrebs-Bluttest jetzt flächendeckend in Deutschland und der Schweiz verfügbar Darmkrebs-Test Epi proColon nur vier Monate nach Markteinführung flächendeckend in Deutschland und der Schweiz verfügbar Epigenomics präsentiert aktuelle klinische Daten auf dem 29. Deutschen Krebskongress in Berlin.
- [30] Genetic and epigenetic biomarkers for diagnosis, prognosis and treatment of colorectal cancer / F. Coppede, A. Lopomo, R. Spisni, L. Migliore // *World J Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20(4). – P. 943–956.
- et al. (2015) Clinical Significance of MLH1 Methylation and CpG Island Methylator Phenotype as Prognostic Markers in Patients with Gastric Cancer. *PLoS One*, 10(6), e0130409. doi: 10.1371/journal.pone.0130409.
- [5] He, D., Zhang, Y. W., Zhang, N. N., Zhou, L., Chen, J. N., Jiang, Y., & Shao, C. K. (2015) Aberrant gene promoter methylation of p16, FHIT, CRBP1, WWOX, and DLC-1 in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinomas. *Med Oncol*, 32(4), 92. doi: 10.1007/s12032-015-0525-y.
- [6] Popat, S., Hubner, R., & Houlston, R. S. (2005) Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol.*, 23, 609–618. doi: 10.1200/JCO.2005.01.086.
- [7] Guastadisegni, C., Colafranceschi, M., Ottini, L., & Dogliotti, E. (2010) Microsatellite instability as a marker of prognosis and response to therapy: a meta-analysis of colorectal cancer survival data. *Eur J Cancer*, 46, 2788–2798. doi: 10.1016/j.ejca.2010.05.009.
- [8] Hewish, M., Lord, C. J., Martin, S. A., Cunningham, D., & Ashworth, A. (2010) Mismatch repair deficient colorectal cancer in the era of personalized treatment. *Nat Rev Clin Oncol.*, 7(4), 197–208. doi: 10.1038/nrclinonc.2010.18.
- [9] Valentini, A. M., Armentano, R., Pirrelli, M., & Caruso, M. L. (2006) Chemotherapeutic agents for colorectal cancer with a defective mismatch repair system: the state of the art. *Cancer Treat Rev*, 32, 607–618. doi: 10.1016/j.ctrv.2006.08.001.
- [10] Papouli, E., Cejka, P., & Jiricny, J. (2004) Dependence of the cytotoxicity of DNA-damaging agents on the mismatch repair status of human cells. *Cancer Res.*, 64(10), 3391–3394. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0513.
- [11] Yamane, K., Schupp, J. E., & Kinsella, T. J. (2007) BRCA1 activates a G2-M cell cycle checkpoint following 6-thioguanine-induced DNA mismatch damage. *Cancer Res.*, 67, 6286–6292. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2205.
- [12] Ribic, C. M., Sargent, D. J., Moore, M. J., Thibodeau, S. N., French, A. J., Goldberg, R. M., et al. (2003) Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med.*, 349, 247–257. doi: 10.1056/NEJMoa022289.
- [13] Sargent, D. J., Marsoni, S., Monges, G., Thibodeau, S. N., Labianca, R., Hamilton, S. R., et al. (2010) Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol.*, 28, 3219–3226. doi: 10.1200/JCO.2009.27.1825.
- [14] Sinicrope, F. A., & Sargent, D. J. (2009) Clinical implications of microsatellite instability in sporadic colon cancers. *Curr Opin Oncol.*, 21, 369–373. doi: 10.1097/CCO.0b013e32832c94bd.
- [15] De la Chapelle, A., & Hampel, H. (2010) Clinical relevance of microsatellite instability in colorectal cancer. *J Clin Oncol.*, 28, 3380–3387. doi: 10.1200/JCO.2009.27.0652.
- [16] Bertagnoli, M. M., Niedzwiecki, D., Compton, C. C., Hahn, H. P., Hall, M., Damas, B., et al. (2009) Microsatellite instability predicts improved response to adjuvant therapy with irinotecan, fluorouracil, and leucovorin in stage III colon cancer: Cancer and Leukemia Group B Protocol 89803. *J Clin Oncol.*, 27, 1814–1821. doi: 10.1200/JCO.2008.18.2071.
- [17] Liang, J. T., Huang, K. C., Lai, H. S., Lee, P. H., Cheng, Y. M., Hsu, H. C., et al. (2002) High-frequency microsatellite instability predicts better chemosensitivity to high-dose 5-fluorouracil plus leucovorin chemotherapy for stage IV sporadic colorectal cancer after palliative bowel resection. *Int J Cancer.*, 101, 519–525. doi: 10.1002/ijc.10643.
- [18] Brueckl, W. M., Moesch, C., Brabletz, T., Koebnick, C., Riedel, C., Jung, A., et al. (2003) Relationship between microsatellite instability, response and survival in palliative patients with colorectal cancer undergoing first-line chemotherapy. *Anticancer Res.*, 23, 1773–1777.
- [19] Penault-Llorca, F., André, F., Sagan, C., Lacroix-Triki, M., Denoux, Y., Verrielle, V., et al. (2009) Ki67 expression and docetaxel efficacy in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol.*, 27(17), 2809–15. doi: 10.1200/JCO.2008.18.2808.
- [20] Tsai, H. L., Lin, C. H., Huang, C. W., Yang, I. P., Yeh, Y. S., Hsu, W. H., et al. (2015) Decreased peritumor VEGF expression could be a predictor of responsiveness to first-line FOLFIRI plus bevacizumab in mCRC patients. *Int J Clin Exp Pathol.*, 8(2), 1900–10.
- [21] Weiguo, C., Rong, F., Weiping, Y., & Yunlin, W. (2014) VEGF-C expression is associated with the poor survival in gastric cancer tissue. *Tumor Biology*, 35(4), 3377–3383. doi: 10.1007/s13277-013-1445-0.
- [22] Gou, H. F., Chen, X. C., Zhu, J., Jiang, M., Yang, Y., Cao, D., & Hou, M. (2011) Expressions of COX-2 and VEGF-C in gastric cancer: correlations with lymphangiogenesis and prognostic implications. *J Exp Clin Cancer Res.*, 30(1), 14. doi: 10.1186/1756-9966-30-14.
- [23] Makoto, I., Joji, K., Shinsuke, K., & Hirokazu, N. (2003) Expression of Vascular Endothelial Growth Factor C and D (VEGF-C and -D) is an Important Risk Factor for Lymphatic Metastasis in Undifferentiated Early Gastric Carcinoma. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 33(1), 21–27.
- [24] Yonemura, Y., Endo, Y., Tabata, K., Kawamura, T., Yun, H. Y., Bandou, E., et al. (2005) Role of VEGF-C and VEGF-D in lymphangiogenesis in gastric cancer. *International Journal of Clinical Oncology*, 10(5), 318–327. doi: 10.1007/s10147-005-0508-7.
- [25] Moliterni, A., Ménard, S., Valagussa, P., Biganzoli, E., Boracchi, P.,

## References

- [1] Kaneda, A., Matsusaka, K., Aburatani, H., & Fukayama, M. (2012) Epstein-Barr virus infection as an epigenetic driver of tumorigenesis. *Cancer Res*, 72(14), 3445–3450. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3919.
- [2] Malcolm R. Alison (2007) *The Cancer Handbook*, 2 Volume Set.
- [3] Sheffield, B., Garratt, J., Kalloger, S. E., Li-Chang, H. H., Torlakovic, E. E., Gilks, C. B., & Schaeffer, D. F. (2014) HER2/neu testing in gastric cancer by immunohistochemistry: assessment of interlaboratory variation. *Arch Pathol Lab Med*, Nov, 138(11), 1495–502. doi: 10.5858/arpa.2013-0604-OA.
- [4] Shigeyasu, K., Nagasaka, T., Mori, Y., Yokomichi, N., Kawai, T., Fuji, T.,

- Balsari, A., et al. (2003) HER2 Overexpression and Doxorubicin in Adjuvant Chemotherapy for Resectable Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 21(3), 458–462. doi: 10.1200/JCO.2003.04.021.
- [26] Munroe, M., & Kolesar, J. (2016) Olaparib for the treatment of BRCA-mutated advanced ovarian cancer. *Am J Health Syst Pharm.*, 73(14), 1037–41. doi: 10.2146/ajhp150550.
- [27] Moiseyenko, V. M., Chubenko, V. A., Moiseyenko, F. V., Zhabina, A. S., Gorodnova, T. V., & Komarov, Y. I. (2014) Evidence for clinical efficacy of mitomycin C in heavily pretreated ovarian cancer patients carrying germ-line BRCA1 mutation. *Med Oncol.*, 31(10), 199. doi: 10.1007/s12032-014-0199-x.
- [28] Nanda, R., Chow, L. Q., Dees, E. C., Berger, R., Gupta, S., Geva, R., et al. (2016) Pembrolizumab in Patients With Advanced Triple-Negative Breast Cancer: Phase Ib KEYNOTE-012 Study. *J Clin Oncol.*, 34(21), 2460–7. doi: 10.1200/JCO.2015.64.8931.
- [29] Epigenomics AG: Darmkrebs-Bluttest jetzt flächendeckend in Deutschland und der Schweiz verfügbar Darmkrebs-Test Epi proColon nur vier Monate nach Markteinführung flächendeckend in Deutschland und der Schweiz verfügbar Epigenomics präsentiert aktuelle klinische Daten auf dem 29. Deutschen Krebskongress in Berlin.
- [30] Coppède, F., Lopomo, A., Spisni, R., & Migliore, L. (2014) Genetic and epigenetic biomarkers for diagnosis, prognosis and treatment of colorectal cancer. *World J Gastroenterol.*, 20(4), 943–956. doi: 10.3748/wjg.v20.i4.943.

---

**Сведения об авторах:**

Машуков А. А., канд. мед. наук, ассистент каф. онкологии с курсом лучевой диагностики, терапии и радиационной медицины, врач высшей категории, Одесский национальный медицинский университет, ординатор абдоминального отделения Одесского областного онкологического диспансера, Украина.

Номер ORCID: 0000-0001-6925-4218

Киркилевский С. И., д-р мед. наук, профессор, зав. научно-исследовательским отделением опухолей грудной полости, Национальный институт рака, г. Киев, Украина.

Номер ORCID: 0000-0002-2074-1936

**Відомості про авторів:**

Машуков А. О., канд. мед. наук, ассистент каф. онкології з курсом променевої діагностики, терапії та радіаційної медицини, Одеський національний медичний університет, лікар вищої категорії, ординатор абдоминального відділення Одеського обласного онкологічного диспансеру, Україна.

Кіркільєвський С. І., д-р мед. наук, професор, зав. науково-дослідного відділення пухлин грудної порожнини, Національний інститут раку, м. Київ, Україна.

**Information about authors:**

Mashukov A. A., MD, PhD, Assistant, Department of Oncology with a Course of Radiation Diagnostics and Radiation Medicine, Odesa National Medical University, Doctor of the Highest Category, Abdominal Surgery Department, Odesa Regional Oncology Center, Ukraine.

Kirkilevsky S. I., MD, PhD, DSci, Professor, Head of the Research Department of Chest Tumors, National Institute of Cancer, Kyiv, Ukraine.

---

**Конфликт интересов:** отсутствует.**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

---

Надійшло до редакції / Received: 29.05.2017

Після доопрацювання / Revised: 12.06.2017

Прийнято до друку / Accepted: 19.06.2017