

На правах рукописи



Быков Игорь Игоревич

**Аспекты персонализации лечения больных раком желудка с учетом
молекулярных маркеров**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

1.5.7. Генетика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научные консультанты:

академик РАН, доктор медицинских наук,
профессор
доктор биологических наук, профессор

Решетов Игорь Владимирович
Немцова Марина Вячеславовна

Официальные оппоненты:

Куликов Евгений Петрович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой онкологии

Тер-Ованесов Михаил Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», Медицинский институт, факультет непрерывного медицинского образования, кафедра онкологии и гематологии, заведующий кафедрой

Цуканов Алексей Сергеевич – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел лабораторной генетики, руководитель отдела

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение Государственный научный центр Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства России

Защита состоится «09» декабря 2022 г. в 11.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.15 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте организации <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

Ветшев Федор Петрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В настоящее время рост показателей заболеваемости злокачественными новообразованиями сохраняется, что в свою очередь отражается на риске смерти от онкологических заболеваний, который имеет тенденцию к увеличению, и, согласно прогнозам американских ученых, возможно, скоро превысит риск смерти от болезней системы кровообращения (Быков И.И. и соавт., 2020; National Cancer Institute, Cancer statistics (2018)). Таким образом, постепенно онкологические заболевания становятся наиболее вероятной причиной смерти.

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) за 2020 год первое место в мировом онкологическом рейтинге заболеваемости занимает рак молочной железы, далее следуют рак легкого, колоректальный рак, рак простаты, замыкает пятерку рак желудка. При этом в структуре заболеваемости пациентов мужского пола рак желудка занимает четвертое место, у пациентов женского пола рак желудка остается на пятом месте. Абсолютная заболеваемость равна 1 089 103 новых случаев в год. Если оценивать смертность, то в ее рейтинге рак желудка занимает четвертое место, что отражается в годовом абсолютном числе смертельных случаев от рака желудка равном 768 793. Схожую картину показывают и отечественные статистические отчеты по заболеваемости и смертности от онкологических заболеваний (Каприн А.Д. и соавт., 2018; de Martel C. et al., 2020; World Health Organization, 2020; Ferlay J. et al., 2020).

В России более половины пациентов с диагнозом Рак желудка поступают на лечение с третьей и четвертой стадиями заболевания, когда основной метод лечения – хирургический – становится в монорежиме малоэффективным. Таким образом, изначально лечение данной категории пациентов не предвещает хорошего прогноза как для жизни, так и для ее качества, не говоря уже о трудовом прогнозе.

Результативность лечения больных раком желудка во многом связывают с адекватной своевременной диагностикой как предраковых состояний и

заболеваний, так и самого онкопроцесса на ранних стадиях (Пирогов С.С. и соавт., 2017; Puneet K.H.R. et al., 2018; Wild C.P. et al., 2020). Необходимо отметить, что для ранних форм рака желудка свойственно отсутствие патогномичной клинической симптоматики; они не являются опухолями визуальной локализации, а также характеризуются низкой диагностической значимостью таких рутинных лабораторных методов исследования как общий и биохимический анализ крови. «Золотым стандартом» в диагностике рака желудка на настоящий момент остается эндоскопическое исследование с проведением биопсии и последующей морфологической верификацией диагноза путем цитологической, гистологической или иммуногистохимической оценки полученного материала (Белковец А.В. и соавт., 2018; Shao L. et al., 2018; Yue H. et al., 2018). Таким образом, клинический диагноз основывается на морфологических критериях, однако остается нерешенным вопрос объективизации изменений слизистой при тяжелой дисплазии на фоне хронических воспалительных изменений, когда трактовка разных специалистов-морфологов может существенно различаться и вносить субъективный элемент в решение о патоморфологическом диагнозе (Ивашкин В.Т. и соавт., 2018; Волченко Н.Н. и соавт., 2020; Huang R.J. et al., 2019). Подслизистый рост опухоли также может затруднить постановку патоморфологического диагноза, поскольку в биоптат зачастую попадают ткани, составляющие опухолевое окружение и не представляющие собственно опухоль, в отдельных случаях полученный образец может содержать опухолевые элементы, но в ничтожно малом количестве. Это диктует необходимость поиска более чувствительных методов диагностики, которые более информативны и опираются в своей оценке на молекулярный уровень организации тканей, позволяющий дать большую детализацию структуры нежели гистологический или клеточный анализ. В свою очередь молекулярный уровень исследования тканей позволяет дать определенные суждения о выявленных изменениях как по опухолевому окружению, где регистрируются определенные изменения, так и по крайне малому объему опухолевого образца, что невозможно в рамках цитологического и гистологического исследований (Корженевская М.А. и соавт., 2015; Egger G. et al.,

2004).

До сих пор существуют различные мнения по поводу проведения скрининга для раннего выявления рака желудка. Например, в Японии, характеризующейся крайне высокими показателями заболеваемости раком желудка, скрининговая политика позволила увеличить выявляемость раннего рака желудка: доля диагностированного эндоскопически раннего рака желудка выросла за несколько лет с 15% до 50%, что положительно сказалось на прогнозе и уровне смертности (Hamashima С., 2018). Однако при том, что выявляемость раннего рака желудка в Японии самая высокая среди стран мира, уровень «пропущенных» случаев раннего рака желудка оценивается в 19% (Zhao С., Вu Х., 2012). В отсутствие скрининговой политики диагностики рака желудка количество случаев «пропущенного» рака естественно оценивается большим процентом (Любченко Л.Н. и соавт., 2017).

Вышесказанное требует определения иных принципов диагностики и тактики ведения больных раком желудка путем поиска и разработки новых подходов и методов исследования.

Степень разработанности темы исследования

Одним из таких подходов является персонализация диагностики и лечения для каждого пациента, которая при этом не исключает наличие стандартных приемов и общих принципов ведения пациентов с данной нозологией. Персонализированную медицину можно определить как «быстро развивающуюся область здравоохранения, основанную на интегрированном, координированном и индивидуальном для каждого пациента подходе к анализу возникновения и течения заболевания» (Сучков С.В. и соавт., 2017, Aboulkheyr Es.H. et al., 2018) или как «интегральную медицину, которая включает разработку персонализированных средств лечения на основе геномики, тестирование на предрасположенность к болезням, профилактику, объединение диагностики с лечением и мониторинг лечения» (Алешин В.А. и соавт., 2017; Hu Z. et al., 2018).

Персонализированная медицина рассматривается как стратегия

профилактики, диагностики и лечения болезней на основе данных о биомаркерах организма, определяемых молекулярно-генетическими особенностями конкретного индивида (Мокрышева Н.Г., Мельниченко Г.А., 2021; Шляхто Е.В., Конради А.О., 2021).

Биомаркеры – это показатели, которые используются при проведении научных медицинских исследований для измерения биологических процессов, процессов развития болезней и реакций на лечение. Использование биомаркеров позволяет оптимизировать процесс разработки медицинских препаратов и способствует индивидуализации курсов лечения (Louie A.D. et al., 2021; Niclauss N. et al., 2021).

Достигнутый прогресс в сфере изучения молекулярно-биологических и биохимических процессов опухолеобразования позволил применять в практической онкологии биохимические и молекулярные маркеры опухолевого роста (Маршутина Н.В. и соавт., 2016; Dong M.Y. et al., 2020).

Исследование этих маркеров видится перспективным решением проблемы диагностики рака желудка и определения тактики ведения больных.

В настоящее время существенное значение приобретают молекулярные маркеры, основанные на использовании геномных технологий. К таким онкологическим маркерам относятся функциональные и структурные повреждения, выявляемые в геноме опухолевой клетки (Волкоморов В.В. и соавт., 2017). Подобные повреждения приводят к изменению генов-регуляторов клеточного цикла, показателей метастатической и инвазивной активности, к повреждению генов, кодирующих адгезионные белки и факторы активности неоангиогенеза, к аномальному метилированию регуляторных областей генов-супрессоров, к изменению активности и экспрессии теломеразы в клетках опухолей и т. д. (Слепов Е.В. и соавт., 2016; Cannataro V.L., Townsend J.P., 2018). Такие онкологические маркеры просты в лабораторном исследовании, являются достаточно чувствительными и специфичными, однако их применение требует тщательной научной разработки и валидации для внедрения в клиническую практику. Это принципиально новый уровень постановки диагноза – не

цитологический, когда исследуются отдельные клетки, не гистологический (по структуре ткани), а наноуровень, оценивающий экспрессию отдельных генов и их мутации, продукты биосинтеза (белков, активности ферментов или молекулярных рецепторов).

Таким образом, решение проблемы лечения рака желудка на сегодняшний день находится на стыке нескольких дисциплин: хирургии, онкологии, фармакологии и молекулярной генетики. Сущность этого подхода заключается в создании систем молекулярных маркеров, определяемых в биоптатах слизистой желудка, которые помогут с большим уровнем точности в более короткие сроки подтвердить или опровергнуть диагноз Рака желудка и помочь в разработке тактики ведения конкретного пациента в рамках реализации принципа персонализированной медицины (Раскина К.В. и соавт., 2017; Darriba D. et al., 2018; van de Naar J. et al., 2019).

В настоящей работе проведен поиск и анализ перспективных молекулярных маркеров, которые, будучи собраны в единую систему в последующем, позволяют одновременно решать вопросы диагностики, лечения и мониторинга пациентов с предполагаемым диагнозом Рака желудка, осуществляя таким образом принцип персонализированного подхода в определении тактики ведения пациентов с данной нозологией, улучшая тем самым результаты лечения данной категории пациентов.

Цель исследования

Улучшить результаты лечения больных раком желудка, используя персонализированный подход на основе молекулярных маркеров.

Задачи исследования

1. Провести анализ молекулярных маркеров, используемых при определении тактики ведения пациентов с онкологическими заболеваниями, выбрать наиболее перспективные для определения у пациентов с предполагаемым диагнозом Рак желудка.

2. Разработать методологию анализа молекулярных маркеров у пациентов с предполагаемым диагнозом Рака желудка на этапах диагностики, лечения и мониторинга данной категории пациентов.
3. Определить связь исследуемых маркеров с основными клиническими показателями и морфологическими характеристиками опухоли, и течением заболевания у пациентов с раком желудка.
4. Провести исследование полиморфизмов генов, отвечающих за синтез ферментов, метаболизирующих фторпиримидины, вариации которых могут влиять на исход комбинированного лечения, сочетающего оперативное лечение и адъювантную химиотерапию при местно-распространенном раке желудка.
5. Разработать систему молекулярных маркеров для оценки изменений слизистой желудка с целью диагностики, персонализации хирургического и комбинированного методов лечения больных с предварительным диагнозом Рака желудка, определения прогноза у данных пациентов, основанную на оценке сопоставления молекулярных маркеров, характеристик опухоли, проведенного лечения и его исходов.
6. Оценить возможность использования выбранных диагностических молекулярных маркеров на дооперационном этапе для использования в рамках персонализированного подхода.
7. Разработать, апробировать и оценить эффективность для практического использования алгоритм персонализированного подхода ведения пациентов, с использованием молекулярных маркеров диагностики, лечения и мониторинга больных раком желудка.

Научная новизна исследования

Впервые предложен персонализированный подход одновременно к диагностике, хирургическому и комбинированному лечению, оценке прогноза у больных раком желудка на основе изучения молекулярных маркеров.

Впервые оценка молекулярных маркеров для персонализации хирургического и комбинированного лечения больных с предварительным диагнозом рак желудка осуществлена на российской выборке пациентов.

Впервые разработан и апробирован алгоритм персонализированного подхода к лечению больных раком желудка на основе системы молекулярных маркеров.

Впервые показано, что использование разработанного алгоритма определения тактики ведения пациентов с предварительным диагнозом Рак желудка, основанного на персонализированном подходе, который в свою очередь построен на использовании молекулярных маркеров, при выполнении резекций желудка в объеме R0 и при условии расширенной лимфаденэктомии не только правомочно, но также повышает степень онкологического радикализма и способствует увеличению продолжительности жизни у больных раком желудка.

Получен патент №2713907 на изобретение «Способа персонализации медицинской помощи пациентам с раком желудка», дата регистрации 11 февраля 2020 года, срок действия до 26 ноября 2039 года.

Материалы работы использованы для выполнения гранта РФФИ №18-015-0033А «Молекулярное профилирование опухолей для выявления новых генов, отвечающих за развитие спорадического, наследственного и семейного рака желудка».

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Проведена оценка возможности применения молекулярных маркеров у больных раком желудка с целью выбора персонализированного подхода к диагностике, лечению и оценке прогноза у данной категории больных.
2. Проведено адаптирование панели молекулярных маркеров рака желудка с целью использования для диагностики, оценки эффективности комбинированного лечения и прогнозирования развития рецидива заболевания.
3. Изучена целесообразность определения молекулярных маркеров для персонализации лечения больных раком желудка.

4. Разработан, апробирован и внедрен в клиническую практику алгоритм персонализированного подхода к определению тактики ведения больных раком желудка, основанный на молекулярных маркерах, позволяющий в более короткие сроки наметить план диагностики, лечения и мониторинга данной категории пациентов.
5. Проведена оценка адекватности проводимого хирургического и химиотерапевтического лечения у пациентов с местно-распространенным раком желудка с использованием персонализированного подхода, в основе которого лежат не только морфологические критерии, но и молекулярные маркеры.
6. Разработан алгоритм персонализированного выбора объема операции на желудке и комбинированного лечения с учетом молекулярных маркеров, позволяющий в более короткие сроки определить тактику ведения и оптимизировать лечение пациентов.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа выполнена по принципам и правилам доказательной медицины. Всего на первом этапе было включено в исследование 800 пациентов с предварительным диагнозом Рак желудка, проходивших обследование и лечение с 2008 по 2016 гг. Из них у 289 пациентов были отобраны для исследования образцы ткани на молекулярные маркеры и у 226 было выполнено данное исследование. При этом помимо определения маркеров в материале, полученном интраоперационно, у 93 пациентов также было осуществлено определение молекулярных маркеров на дооперационном этапе в материале, полученном при эндоскопической биопсии. В дальнейшем 289 пациентов были разделены на три подгруппы. В первую подгруппу вошли 106 пациентов, материал от которых послужил основой для оценки возможности определения маркеров в рамках дифференциальной диагностики рака желудка, что включало определение метилирования генов *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *TUSC3*, *DAPK*, экспрессии генов *hTERT*, *MMP7*, *MMP9*, *BIRC5*, *PTGS2*, *TP53*, активности теломеразы в образцах

ткани. Сопоставление показателей маркеров проводилось с контрольной группой из 50 пациентов, страдавших желчнокаменной болезнью, в отсутствии возможных поражений слизистой желудка. Во вторую подгруппу вошли 80 пациентов, у которых определялись полиморфизмы генов *TYMS* и *TP53* с целью оценки значения данных параметров для проведения комбинированного лечения. В третью подгруппу вошли 103 пациента, у которых проводилось определение метилирования генов *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *TUSC3*, *DAPK*, *RUNX3* с целью прогнозирования возможного возникновения рецидива заболевания после проведенного лечения. По результатам была сформирована панель маркеров персонализированного подхода к проведению диагностики, тактики комбинированного лечения и оценке возникновения рецидива заболевания. На втором этапе в группу исследования было введено 150 пациентов, проходивших лечение с 2016 по 2021 гг., соответственно по 50 пациентов в каждой подгруппе, для оценки каждого из компонентов системы: диагностического, лечебного и прогностического. В последующем это дало возможность оценить значение разработанной системы молекулярных маркеров для персонализированного подхода к диагностике, лечению и оценке возможного рецидива у больных с предполагаемым диагнозом Рак желудка.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Уровни метилирования генов *RASSF1A*, *MLH1*, экспрессии генов *hTERT*, *MMP7*, *BIRC5*, активности теломеразы достоверно подтверждают наличие опухолевого процесса в слизистой оболочке желудка, данные показатели обязательны к определению для диагностики в рамках персонализированного подхода к лечению рака желудка.
2. Полиморфизмы генов, отвечающих за синтез ферментов, метаболизирующих фторпиримидины, достоверно связаны с характеристиками первичной опухоли желудка, вторичным поражением локо-регионарных лимфатических узлов, рецидивом заболевания после проведенного комбинированного заболевания, что

необходимо использовать в рамках персонализированного подхода в определении тактики лечения пациентов с раком желудка.

3. Полиморфизмы генов, отвечающих за синтез ферментов, метаболизирующих фторпиримидины, достоверно связаны с выживаемостью пациентов, которым проведено комбинированное лечение, что необходимо использовать в рамках персонализированного подхода к определению тактики лечения пациентов с раком желудка.

4. Общий статус пациента, характеристики первичного опухолевого очага, полиморфизмы генов, отвечающих за синтез ферментов, метаболизирующих фторпиримидины, являются факторами прогноза лечения, что следует использовать в рамках персонализированного подхода в лечении больных раком желудка.

5. Отдаленные результаты лечения в сопоставлении с молекулярными показателями определяют проведение радикальной резекции желудка с лимфаденэктомией в объеме D2, правомочным вариантом лечения больных раком желудка при наличии соответствующих показаний к данному объему оперативного лечения.

6. Исследование отсроченного метилирования генов *TUSC3*, *CDH1* и *RUNX3* следует использовать в качестве дополнительного маркера прогноза в рамках персонализированного подхода к послеоперационному мониторингу больных.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Сформулированные в диссертации научные положения, выводы и рекомендации обоснованы теоретическими решениями и экспериментальными данными, полученными в работе, и не противоречат известным положениям наук; базируются на строго доказанных выводах, согласуются с известным опытом создания и совершенствования знаний.

Апробация результатов работы

Материалы диссертации были представлены и обсуждены на XI съезде хирургов Российской Федерации (Волгоград, 25—27 мая 2011 г.), на научно-практической конференции с международным участием «Успенские чтения» (Тверь, 2012 г.), на Всероссийском симпозиуме молодых ученых «Современные проблемы хирургии и хирургической онкологии» (Москва, 29—30 ноября 2012 г.), на Европейской конференции по генетике человека (Нюрнберг, Германия, 23—26 июня 2012 г.), на XIV международной заочной научно-практической конференции «Научная дискуссия: вопросы медицины» (Москва, 2013 г.), на 20-ом Мировом конгрессе рака желудочно-кишечного тракта ESMO (Барселона, Испания, 20—23 июня 2018 г.), на Мировом конгрессе ESMO (Барселона, Испания, 27 сентября – 1 октября 2019 г.).

Работа являлась частью проекта «Новая система молекулярно-генетических маркеров в диагностике рака желудка», который стал номинантом в категории «Лучший проект года», подноминации «Лучший научно-исследовательский проект» Всероссийской премии в области онкологии ассоциации онкологов России IN VITA VERITAS (Санкт-Петербург, 12 сентября 2013 г.).

Апробация диссертации была проведена на заседании кафедры онкологии, радиотерапии и пластической хирургии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) (протокол № 6/29 от 29 июня 2022 г.).

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в лечебный процесс онкологического отделения противоопухолевой терапии, онкологического отделения хирургических методов лечения, хирургического отделения Университетской клинической больницы №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), а также внедрены в учебный

процесс кафедры онкологии, радиотерапии и реконструктивной хирургии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Материалы диссертационного исследования использовались при выполнении НИР по государственному заказу «Разработка современных технологий подготовки специалистов с высшим медицинским и фармакологическим образованием на основе достижений медико-биологических исследований». Рег. № 01.2.006.06352.

Материалы диссертационного исследования использовались при выполнении гранта РФФИ №18-015-0033А «Молекулярное профилирование опухолей для выявления новых генов, отвечающих за развитие спорадического, наследственного и семейного рака желудка».

Получен патент №2713907 на изобретение «Способ персонализации медицинской помощи пациентам с раком желудка», дата регистрации 11 февраля 2020 года, срок действия до 26 ноября 2039 года.

Личный вклад автора

Вклад автора работы определяется тем, что исследователем лично определено направление исследования, сформулированы цели и задачи, разработан план исследования, выбраны методы для его реализации. Исследователем самостоятельно проведен отбор пациентов, собраны анамнестические данные, определены клиничко-диагностические исследования, осуществлено наблюдение больных в динамике, также автор лично принимал участие в хирургических вмешательствах. Автор самостоятельно обработал полученные клинические данные, провел статистическую обработку, анализ, обобщение полученных результатов исследований, а также сравнил выводы собственной работы с имеющимися в литературе данными и изложил результаты исследования в тексте диссертации. Автором лично проанализированы, систематизированы и

статистически обработаны результаты анализа диагностики и лечения 950 пациентов с предварительным диагнозом Рак желудка, находившихся на лечении в Клинике пластической и реконструктивной хирургии ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России Минздрава России (Сеченовский Университет), Клинике факультетской хирургии имени Н.Н. Бурденко УКБ №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), а также в химиотерапевтическом отделении №2 отдела лекарственного лечения НИИ Клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России с 2008 по 2021 гг., из которых 439 пациентов были отобраны для проведения исследования молекулярных маркеров. Автором лично проведена большая часть клинических наблюдений, комплексное обследование и лечение (включая предоперационную подготовку, многие из оперативных вмешательств, послеоперационный период), а также ведение больных при контрольном обследовании. Таким образом, вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии во всех этапах исследования от постановки цели и задач до обсуждения результатов, и формулировки выводов.

Публикации

По результатам исследования автором опубликовано 25 работ, в том числе 12 научных статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук; 3 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах (Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer); 5 статей в иных изданиях; 1 патент; 2 публикации в сборниках материалов международных научных конференций; 1 монография; 1 руководство.

Соответствие диссертации паспорту научных специальностей

Научные положения диссертации соответствуют пункту 2 «Исследования по изучению этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии и др.)» паспорта специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия и паспорта специальности 1.5.7. Генетика.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 242 страницах, состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа иллюстрирована 16 рисунками, содержит 23 таблицы, библиография включает 284 источника, из них 76 отечественных и 208 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во *введении* обоснована актуальность исследования, определены цель и задачи, изложена научная новизна и научно-практическая значимость результатов исследования, сформулированы основные положения, выносимые на защиту, представлены данные о внедрении в практику результатов исследования.

В *первой главе* представлена эпидемиология рака желудка, рассмотрена проблема мультифакториальности рака желудка, описана роль бактерий и вирусов в патогенезе рака желудка. Автором представлена характеристика предраковых повреждений слизистой оболочки желудка, изложены исторические этапы молекулярных исследований рака желудка, молекулярные основы канцерогенеза желудка, показано значение наследственного фактора в развитии рака желудка, а также описаны полногеномные исследования при раке желудка.

Вторая глава включает описание материалов и методов исследования. В соответствии с целью исследования разработан дизайн исследования, который приведен на Рисунке 1.

Исследование было открытым, многоцентровым, носило ретроспективно-проспективный характер, являлось информационно-поисковым и было выполнено на базе УКБ №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), химиотерапевтического отделения №2 отдела лекарственного лечения НИИ Клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, на кафедре онкологии, радиотерапии и пластической хирургии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), кафедре факультетской хирургии №1 Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), кафедре онкологии и пластической хирургии Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, лаборатории медицинской генетики Института молекулярной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

В исследование на первом этапе было включено 800 пациентов с предполагаемым диагнозом Рак желудка, находившихся на лечении в УКБ №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и химиотерапевтическом отделении №2 отдела лекарственного лечения НИИ Клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с 2008 по 2016 гг. Из 800 пациентов с предполагаемым диагнозом Рак желудка, вошедших в исследование, было отобрано 289 пациентов для исследования образцов на молекулярные маркеры, которые были разделены на три подгруппы. У 226 из 289 пациентов было проведено исследование на молекулярные маркеры. При этом 93 пациентам была выполнена эндоскопическая биопсия и забор фрагментов опухоли и слизистой желудка для последующего определения молекулярных маркеров на дооперационном этапе.

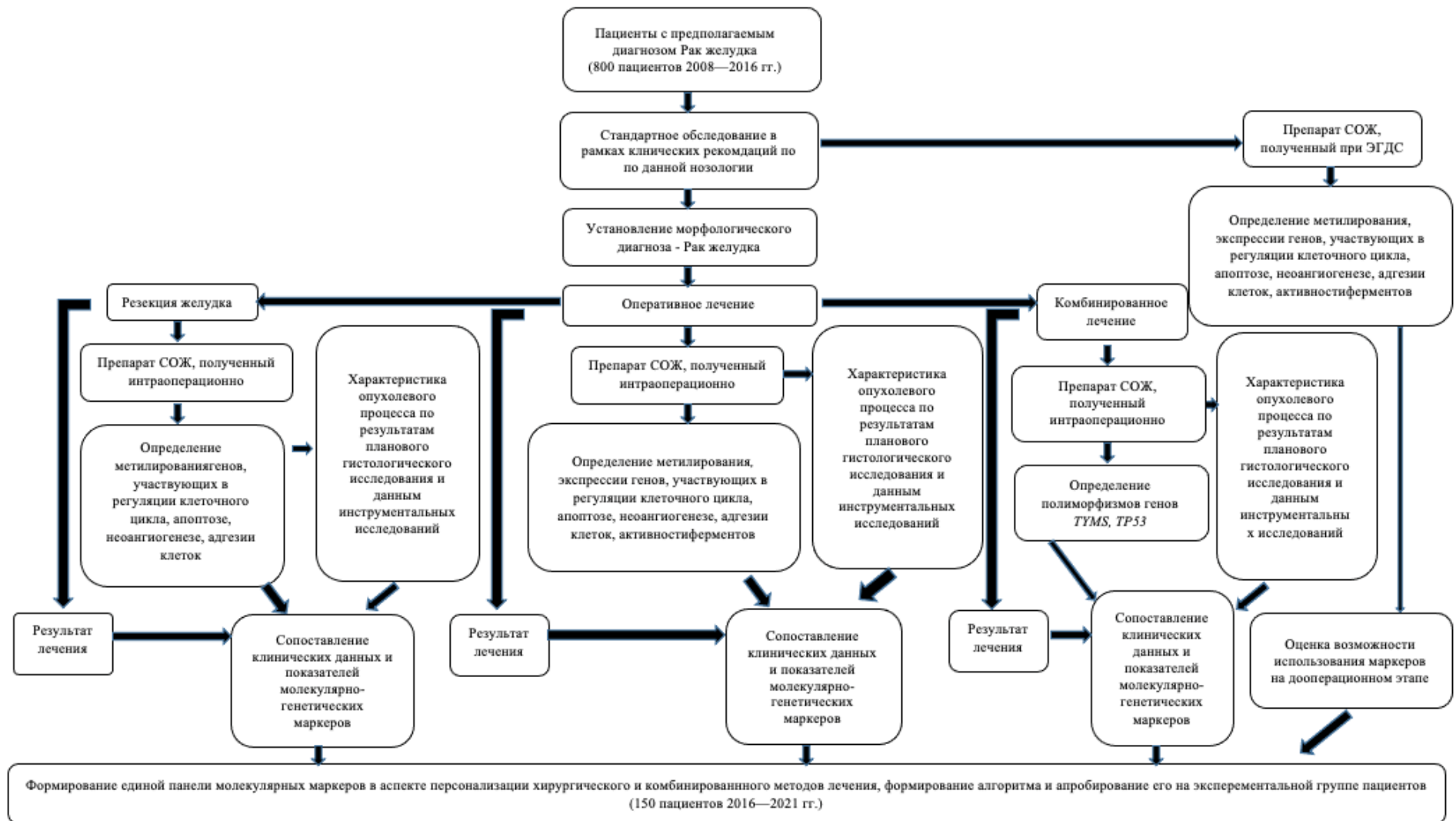


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Как было сказано выше, 289 пациентов с предполагаемым диагнозом Рак желудка, вошедшие в группу исследования, и у которых планировался забор материала для определения молекулярных маркеров после дообследования и установления диагноза Рак желудка, были разделены на три подгруппы в соответствии с задачами исследования.

В *первую подгруппу* вошли 106 больных раком желудка, находившихся в УКБ №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), а также в химиотерапевтическом отделении №2 отдела лекарственного лечения НИИ Клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с 2008 г. по 2016 г. Материал, полученный от пациентов данной подгруппы (точки забора 1-4, 2э, Рисунок 2), послужил основой для определения и оценки молекулярных маркеров комплексной дифференциальной диагностики рака на дооперационном этапе, что включало определение аномального метилирования генов *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *TUSC3*, *DAPK*, экспрессии генов *hTERT*, *MMP7*, *MMP9*, *BIRC5*, *PTGS2*, *TP53*, активности теломеразы, с целью персонализации диагностики заболевания.

При этом у 53 (50 %) пациентов в первой подгруппе исследования эндоскопически из края опухоли, точка 2э (Рисунок 2), был взят материал на этапе дооперационного обследования, то есть по тем же принципам, по которым он отбирается для предоперационного цитологического и гистологического исследований.

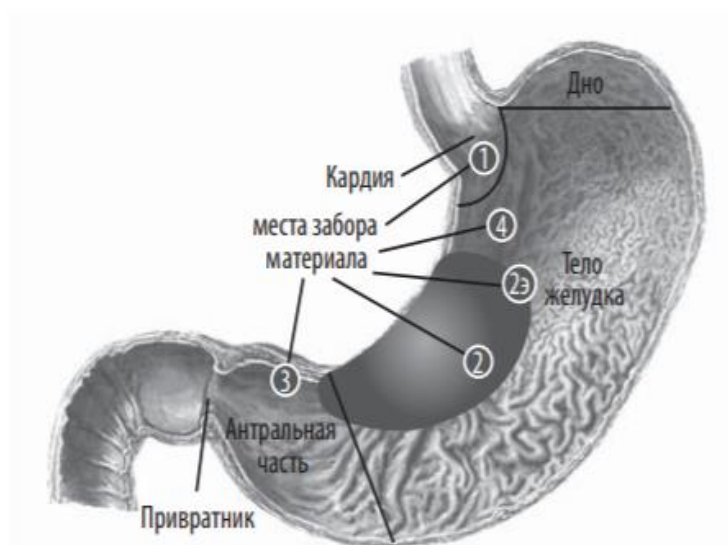


Рисунок 2 – Области забора тканевого материала (1–4, 2э) в исследуемой первой подгруппе пациентов

Во *вторую подгруппу* вошли 80 больных раком желудка, находившихся в УКБ №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), а также в химиотерапевтическом отделении №2 отдела лекарственного лечения НИИ Клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с 2009 г. по 2016 г. с местно-распространенным раком желудка со стадиями заболевания ПА–ШС, которым было выполнено радикальное оперативное вмешательство: гастрэктомия, резекции желудка с гистологически подтвержденными интактными краями резекции (R0). Материал, полученный от пациентов данной подгруппы, послужил основой для определения полиморфных вариантов гена *TUMS* и гена *TP53* и их связи с эффективностью комбинированного лечения, включающего радикальное оперативное лечение и адъювантную химиотерапию на основе 5-фторурацила (5-ФУ). Таким образом была проведена оценка эффективности возможного комбинированного лечения и значение определения молекулярных маркеров у больных с местно-распространенным раком желудка для последующего анализа и персонализации комбинированного лечения на основании полученных показателей.

В *третью подгруппу* вошли 103 больных раком желудка, находившихся в

УКБ №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), а также в химиотерапевтическом отделении №2 отдела лекарственного лечения НИИ Клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с 2009 г. по 2016 г., доступных для полноценного ретроспективного анализа, оперированных по поводу рака желудка в объеме резекции желудка. Материал, полученный от пациентов данной подгруппы из области культи желудка, послужил основой определения и оценки молекулярных маркеров прогноза заболевания, что включало определение аномального метилирования генов *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *TUSC3*, *DAPK*, *RUNX3* с целью персонализации последующего мониторинга для оценки риска возникновения рецидива заболевания.

На втором этапе работы в группу исследования было дополнительно введено 150 пациентов с предполагаемым диагнозом Рак желудка, находившихся на лечении и последующем наблюдении в УКБ №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), а также в химиотерапевтическом отделении №2 отдела лекарственного лечения НИИ Клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России с 2016 по 2021 гг., таким образом, группа исследования к 2021 году составила 950 пациентов.

Данные 150 пациентов были определены, как *экспериментальная группа*, решение о тактике ведения этих пациентов было проведено с использованием разработанного алгоритма персонализированного подхода к лечению больных раком желудка на основе молекулярных маркеров с целью оценки эффективности применения алгоритма на этапах диагностики, лечения и динамического наблюдения. В последующем в экспериментальной группе из 150 пациентов для оценки каждого из компонентов алгоритма было выделено три экспериментальных подгруппы: в *первую экспериментальную подгруппу* вошло 50 пациентов, у которых маркеры определялись на этапе диагностики из материала полученного при эндоскопическом исследовании; во *вторую экспериментальную подгруппу*

вошли 50 пациентов, которым проведено определение маркеров и в последующем им было выполнено комбинированное лечение по поводу рака желудка с учетом показателей маркеров; в *третью экспериментальную подгруппу* включено 50 пациентов, оперированных по поводу первичной опухоли желудка в объеме резекции желудка, а в ходе последующего мониторинга за данными пациентами помимо стандартных исследований выполнялось определение молекулярных маркеров в материале, полученном при эндоскопическом исследовании слизистой культи желудка.

В качестве группы сравнения для экспериментальной группы из группы исследования 800 пациентов, проходивших лечение в ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), а также в химиотерапевтическом отделении №2 отдела лекарственного лечения НИИ Клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России с 2008 по 2016 гг., было отобрано 511 пациентов, у которых в ходе обследования, лечения и мониторинга не проводилось исследование молекулярных маркеров, а диагностика, лечение и мониторинг проводились только исходя из клинических рекомендаций.

Соответственно далее для каждой экспериментальной подгруппы из группы сравнения (511 пациентов) были сформированы сравнительные подгруппы: в первую сравнительную подгруппу вошло 50 пациентов, у которых на этапе диагностики исследования молекулярных маркеров не проводилось; во вторую сравнительную подгруппу выделено 50 пациентов, им в дальнейшем проводилось комбинированное лечение по поводу рака желудка, однако исследование молекулярных маркеров не проводилось; в третью сравнительную подгруппу вошло 50 пациентов, которым проведена резекция желудка по поводу первичного опухолевого процесса, и в последующем они находились под динамическим наблюдением, при этом исследование молекулярных маркеров в слизистой культи желудка им не проводилось. Таким образом всем пациентам сравнительных подгрупп не проводилось исследование молекулярных маркеров, которое могло повлиять на тактику ведения.

Компьютерные программы и статистические методы изучения достоверности результатов. Image J 1.35I («National Institute of Health», США), QuantaOne v.4.4.0 («Bio-Rad», США), OligoVer.6.67 («Molecular Biology Insights», США), Vector NTI v.7.1 («Infor Max, Inc.», США), PASW Statistics 18.0 (SPSS Inc, США), Microsoft Office- 2013, Статистическая обработка материала выполнена на персональном компьютере на базе ОС «Windows-10» при помощи средств «Microsoft Office – 2013». База данных характеристик оперированных больных была создана на основе «PASW Statistics 18.0» (SPSSInc, США). Обработка полученных результатов проведена с использованием методов вариационной статистики и расчетом среднего квадратического отклонения, ошибок средней арифметической ($M \pm m$) и относительной величины ($P \pm m$). Для установления статистической достоверности различий в частотах отдельных признаков между группами использовались таблицы сопряженности с использованием критерия χ^2 . Критерием достоверности различий считалось достижение уровня значимости $p < 0,05$.

В *третьей главе* представлены основные результаты проведенного исследования.

В *первой подгруппе* исследования для 106 пациентов были выбраны следующие гены *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *TUSC3*, *DAPK* с целью оценки их метилирования в образцах ткани. Ткань для анализа метилирования была взята, как из самого первичного очага, так и на расстоянии от него, в тех точках, где происходит пересечение органа при его полном или парциальном удалении.

По результатам оценки метилирования можно заключить, что отмечена девиация по данному показателю для генов *MLH1*, *RASSF1A* и генов *DAPK*, *TUSC3*, *CDH1*. Так для первых характерно повышение показателя именно в самой опухоли, а для вторых регистрировалось повышение как в опухоли, так и в отстоящей слизистой желудка. При этом статистически данная девиация также была подтверждена.

Помимо сравнения уровней метилирования непосредственно в опухолевом очаге и окружающей, визуально интактной, слизистой желудка произведено

сопоставление показателей метилирования, взятых у больных раком с уровнями метилирования в слизистой оболочке желудка у пациентов с желчнокаменной болезнью, в отсутствие любого онкопроцесса.

По уровням метилирования трех генов *DAPK*, *TUSC3*, *CDH1* отмечено достоверное отличие у пациентов с опухолевым процессом относительно больных желчнокаменной болезнью.

Проведена оценка экспрессии генов *hTERT*, *MMP7*, *BIRC5*, *MMP9*, *TP53*, *PTGS2* у больных раком желудка как в первичном очаге, так и на отдаленных от опухоли участках слизистой.

Экспрессия генов была достоверно выше в опухолевом очаге относительно остальных участков слизистой желудка за исключением показателей экспрессии гена *TP53*, для которого достоверной разницы в первичном опухолевом локусе и на остальных участках слизистой желудка выявлено не было, поэтому для него было проведено исключение из линейки экспрессионных маркеров.

Помимо сравнения уровней экспрессии генов непосредственно в опухолевом очаге и окружающей, визуально интактной, слизистой желудка произведено сопоставление показателей метилирования, взятых у больных раком с уровнями экспрессии в слизистой оболочке желудка у пациентов с желчнокаменной болезнью, в отсутствие любого онкопроцесса. Достоверные отличия по показателям экспрессии *hTERT*, *BIRC5*, *MMP7* были получены в первичном опухолевом локусе ($p < 0,01$).

Активность теломеразы характеризует способность к дальнейшему делению клетки, повышение уровня активности данного фермента ассоциируется с онкопролиферативным процессом. Оценка по данному показателю проведена в зависимости от областей взятия биоптатов: непосредственно в опухолевом очаге, приближенных к нему участках слизистой желудка, а также на удаленных от первичного локуса участках.

В ходе проведенного исследования выявлено, что активность фермента достоверно выше в биоптатах из опухолевого локуса, нежели чем на остальных участках слизистой желудка как приближенных к самому локусу, так и на

приближенных к краям резекции препарата ($p < 0,01$).

Выявлена достоверная разница в активности фермента в биоптатах опухолевого локуса у онкопациентов и в неизменной слизистой желудка у больных желчнокаменной болезнью ($p < 0,01$). При этом биоптаты как приближенных к опухоли участков слизистой желудка, так и приближенных к краю резекции органа участков слизистой по уровням экспрессии фермента не отличались от биоптатов слизистой желудка у пациентов с желчнокаменной болезнью.

Возможное использование маркеров для диагностики предполагает необходимым условием оценку уровней показателей на дооперационном этапе, то есть в образцах ткани, полученных при эндоскопическом исследовании, дополненном биопсией опухолевого очага. Малый объем образца, получаемый при эндоскопическом исследовании, в отличие от объема образца, получаемого при удалении всего препарата на операции, для оценки молекулярных маркеров потребовал оценки возможности определения маркеров в полученных дооперационно образцах. Также потребовалось доказать, что эндоскопически полученные образцы опухоли содержат необходимое количество опухолевой ткани, а диагностика, проведенная по данным образцам в рамках определения всех трех компонентов диагностической части панели, сопоставима, как если бы образец был получен интраоперационно в большем объеме. Также визуальная оценка опухоли при эндоскопическом исследовании несколько отличается от ее оценки *ad oculus* в резецированном или удаленном целиком желудке, что предположительно тоже могло повлечь определенные изменения в технологическом процессе определения уровней молекулярных маркеров.

Для этого у 53 пациентов первой группы на дооперационном этапе эндоскопически были взяты образцы опухоли и уровни показателей метилирования генов, экспрессии генов и активности фермента в данных образцах были сопоставлены с уровнями тех же показателей у всех 106 пациентов первой группы исследования, которые впоследствии были оперированы по поводу рака желудка и соответственно материал был получен интраоперационно.

Достоверно значимой разницы по показателям маркеров в дооперационно полученном материале и взятом в ходе оперативного лечения не получено.

Для оценки значения отдельных маркеров в диагностической части системы, а также всего диагностического компонента проведен анализ таких показателей, как специфичность, чувствительность, прогностическая ценность положительного результата, прогностическая ценность отрицательного результата, отношение правдоподобия как отрицательного, так и положительного, а также отношения шанса теста. Данные представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Значение маркеров в диагностике рака

Маркер	Чувствительность	Специфичность	ПЦПР	ПЦОР	Точность	ОППР	ОПОР	ОШДТ
<i>Метилирование MLH1</i>	16	98	100	58	54	8	0,9	10
<i>Метилирование RASSF1A</i>	16	98	100	58	53	8	0,9	9
<i>Экспрессия BIRC5</i>	70	88	79	61	80	6	0,4	16
<i>Экспрессия MMP7</i>	85	88	75	76	90	7	0,2	40
<i>Экспрессия hTERT</i>	62	99	100	56	74	6	0,4	164
АТ	67	97	100	58	77	22	0,3	65

Таким образом общая чувствительность составила 53 %, а специфичность 95%.

Во второй группе исследования, составившей 80 больных раком желудка с локализованной формой онкопроцесса, при этом 58 из них была проведена химиотерапия в послеоперационном периоде, выполнено сопоставление наличия полиморфизмов генов.

Были изучены отдаленные результаты лечения с учетом генотипирования по полиморфизмам генов *TUMS* и *TP53* у больных, которым после радикальной операции по поводу местно-распространенного рака желудка проводилась

адьювантная химиотерапия с применением схем на основе производных фторпиримидинов. Медиана длительности наблюдения за этими пациентами составила 33 месяца (от 4 до 40 месяцев). Из получавших комбинированное лечение 58 пациентов 58,0 % (34) оставались в живых в течение всего периода наблюдения. За это время рецидив заболевания (местный рецидив, канцероматоз брюшины, отдаленные метастазы) развился у 52,0 % (30) пациентов на фоне комбинированного лечения. Шесть больных из числа больных с возникшим рецидивом рака желудка после адьювантной химиотерапии на момент окончания исследования были живы.

Проведен корреляционный анализ полиморфизмов гена *TYMS* с общей и безрецидивной выживаемостью пациентов, который показал наличие связи между безрецидивной выживаемостью, общей выживаемостью и полиморфизмами 5'UTR VNTR. Анализ безрецидивной выживаемости показал, что имеются статистически значимые различия между пациентами с генотипами 3R/3R и 3R/2R: безрецидивная выживаемость статистически значимо ниже у больных с генотипом 3R/3R по сравнению с 3R/2R ($p=0,049$, лог-ранговый тест) (Рисунок 3).

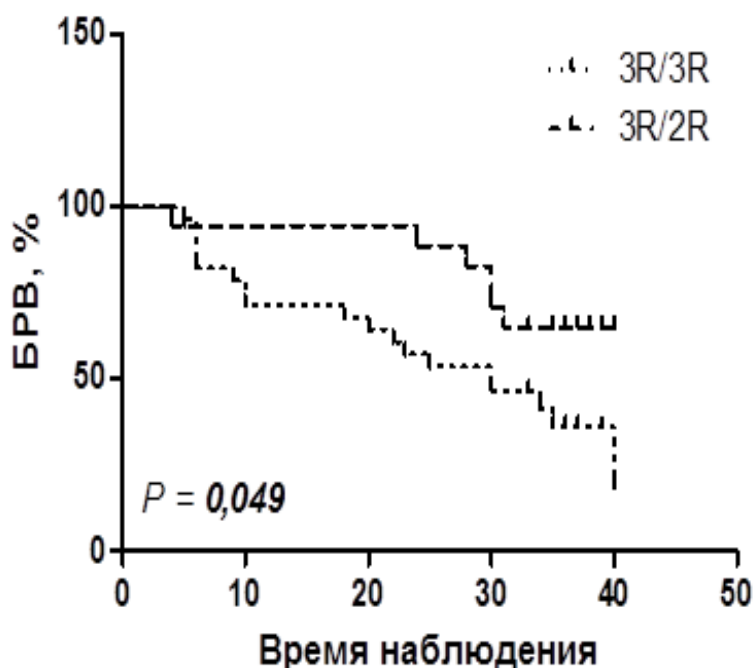


Рисунок 3 – Полиморфные формы гена *TYMS* и выживаемость больных с опухолевым локорегионарным поражением желудка в отсутствие рецидива

Средняя безрецидивная выживаемость при генотипе 3R/3R составила $25,8 \pm 2,5$ месяца (95%-й доверительный интервал [95% ДИ] 20,8–30,7), медиана выживаемости составила 30 месяцев. При генотипе 3R/2R средняя безрецидивная выживаемость составила $34,6 \pm 2,2$ месяца (95% ДИ 30,4–38,9). При изучении взаимосвязи между общей выживаемостью и полиморфизмами гена *TUMS* установлено, что имеются статистически значимые различия между группировками 3R/3R и 3R/2R: общая выживаемость статистически значимо ниже у больных с генотипом 3R/3R по сравнению с 3R/2R ($p=0,046$, лог-ранговый тест) (Рисунок 4).

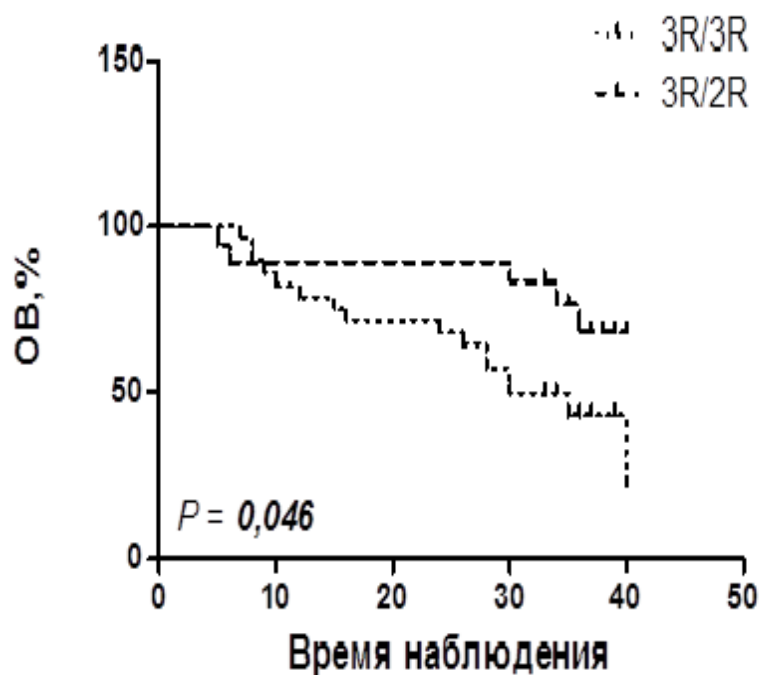


Рисунок 4 – Полиморфные формы гена *TUMS* и выживаемость больных с опухолевым локорегионарным поражением желудка

Выживаемость у пациентов с полиморфизмом гена *TUMS* 3R/3R составила 29 ± 2 месяца (95% ДИ 24–33), медиана выживаемости — 30 месяцев. Средняя общая выживаемость у пациентов с генотипом 3R/2R была $35 \pm 3,3$ месяца (95% ДИ 30–40). Таким образом, увеличение количества повторов R фрагмента в полиморфизмах говорит в пользу увеличения активности фермента, что в свою

очередь приводит к более быстрому метаболизму фторпиримидинов, при этом эффективность химиотерапевтического лечения снижается, выживаемость пациентов представляется худшими показателями. Статистически значимой взаимосвязи общей и безрецидивной выживаемости с остальными полиморфизмами гена *TYMS* в ходе исследования не выявлено.

Проведен анализ корреляции полиморфизмов гена *TP53* в кодоне 72, эк-зоне 4 (Arg>Pro) и в интроне 3 (ins 16 bp) с безрецидивной и общей выживаемостью пациентов. Безрецидивная выживаемость при генотипе Arg/Arg в среднем составила $29,1 \pm 2,2$ месяца (95% ДИ 24,7–33,5), медиана выживаемости — 31 месяц; при генотипе Pro/Pro — $20,0 \pm 3,5$ месяца (95% ДИ 13,2–26,8), медиана — 23 месяца (Рисунок 5). Средняя безрецидивная выживаемость при генотипе Arg/Pro составила $29,5 \pm 3,3$ месяца (95% ДИ 23,1–36,0), медиана выживаемости не достигнута. Не отмечено статистически значимой связи между полиморфизмом в интроне 3 (ins 16 bp) гена *TP53* и безрецидивной выживаемостью, а также между всеми исследуемыми полиморфизмами гена *TP53* и общей выживаемостью.

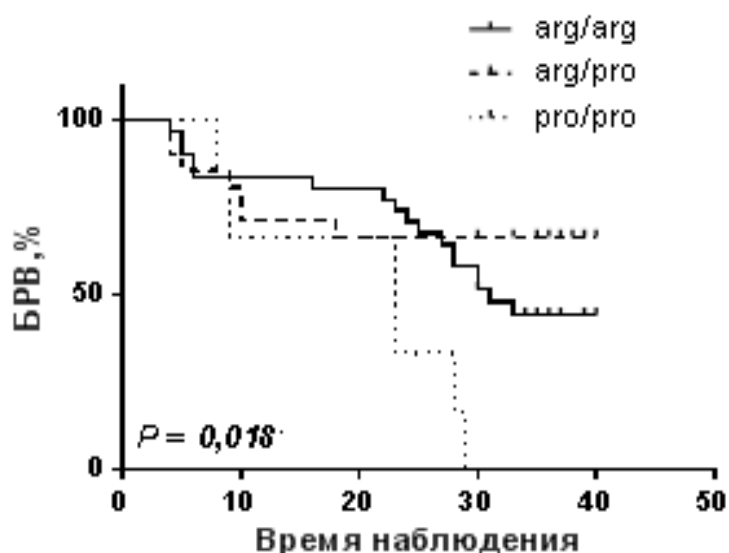


Рисунок 5 – Безрецидивная выживаемость больных местно-распространенным раком желудка с полиморфизмами гена *TP53* Arg>Pro в 72 кодоне

Из 103 пациентов, вошедших в *третью подгруппу* исследования, у 40

больных в послеоперационный период при контрольной ЭГДС отбирался материал, который в дальнейшем подвергался гистологическому исследованию и анализу на молекулярные маркеры. С целью прогнозирования возможного рецидива рака желудка или генерализации опухолевого процесса у больных, ранее перенесших хирургическое лечение в объеме резекции желудка, исследована система молекулярных маркеров, которая включала определение аномального метилирования генов-супрессоров опухолевого роста *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *TUSC3*, *DAPK*, *RUNX3*. Забор материала у пациентов осуществлялся в период 6–39 месяцев после операции. В момент забора материала для исследования первичная опухоль уже была удалена и, по показаниям, проведена химиотерапия. В послеоперационном периоде при контрольной ЭГДС отбирался биоптат слизистой оболочки культи желудка. У всех пациентов проведен морфологический контроль области ранее наложенного анастомоза, опухолевых клеток не обнаружено. При анализе данных пациенты были разделены на две группировки. К 1-й группировке (met+) отнесены пациенты, имеющие в слизистой оболочке аномальное метилирование 1, 2 или 3 генов, 9 (22,5 %) из 40; ко 2-й группировке (met-) отнесены пациенты, в слизистой оболочке которых аномального метилирования выявлено не было, 31 (77,5 %) из 40. У всех 40 больных при морфологическом исследовании биоптатов, полученных из слизистой оболочки культи желудка, опухолевых клеток в препаратах не обнаружено. В группировке больных, имеющих аномальное метилирование хотя бы одного гена, двое умерли от генерализации заболевания через 2 года, 1 пациент имел генерализацию опухолевого процесса и был жив на момент проводимого исследования. Генерализация заболевания в этой группировке выявлена у 3 (33,3%) из 9 пациентов. В группировке пациентов, не имевших аномального метилирования исследуемых генов, генерализация процесса и смерть в течение 2 лет после операции зафиксированы у 1 (3,2 %) из 31 больного.

На основании проведенных исследований разработан алгоритм персонализированного подхода к выбору тактики ведения больных с предполагаемым диагнозом Рак желудка, который представлен на Рисунках 6–8.

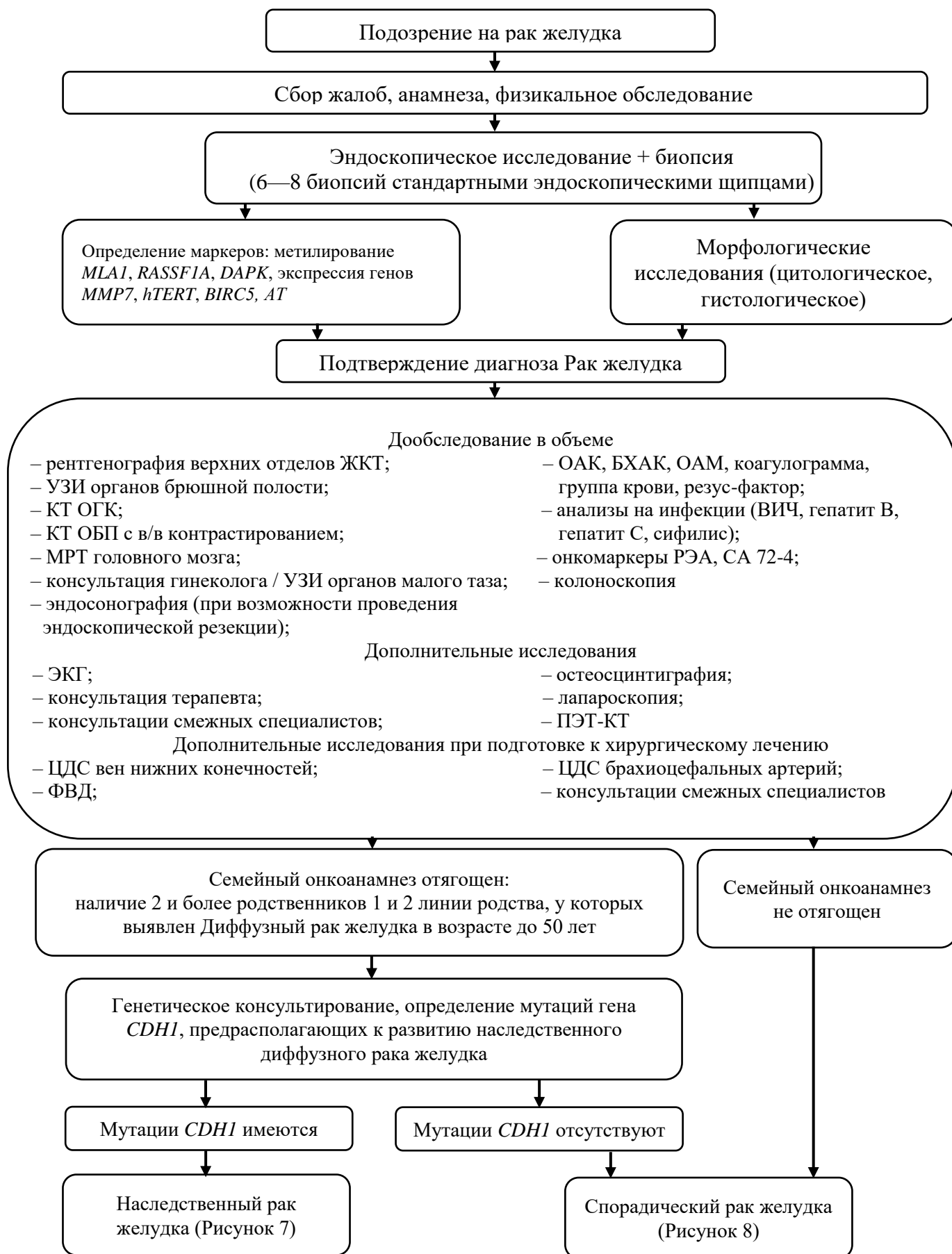


Рисунок 6 – Алгоритм персонализированного подхода к выбору тактики ведения больных с предполагаемым диагнозом Рак желудка

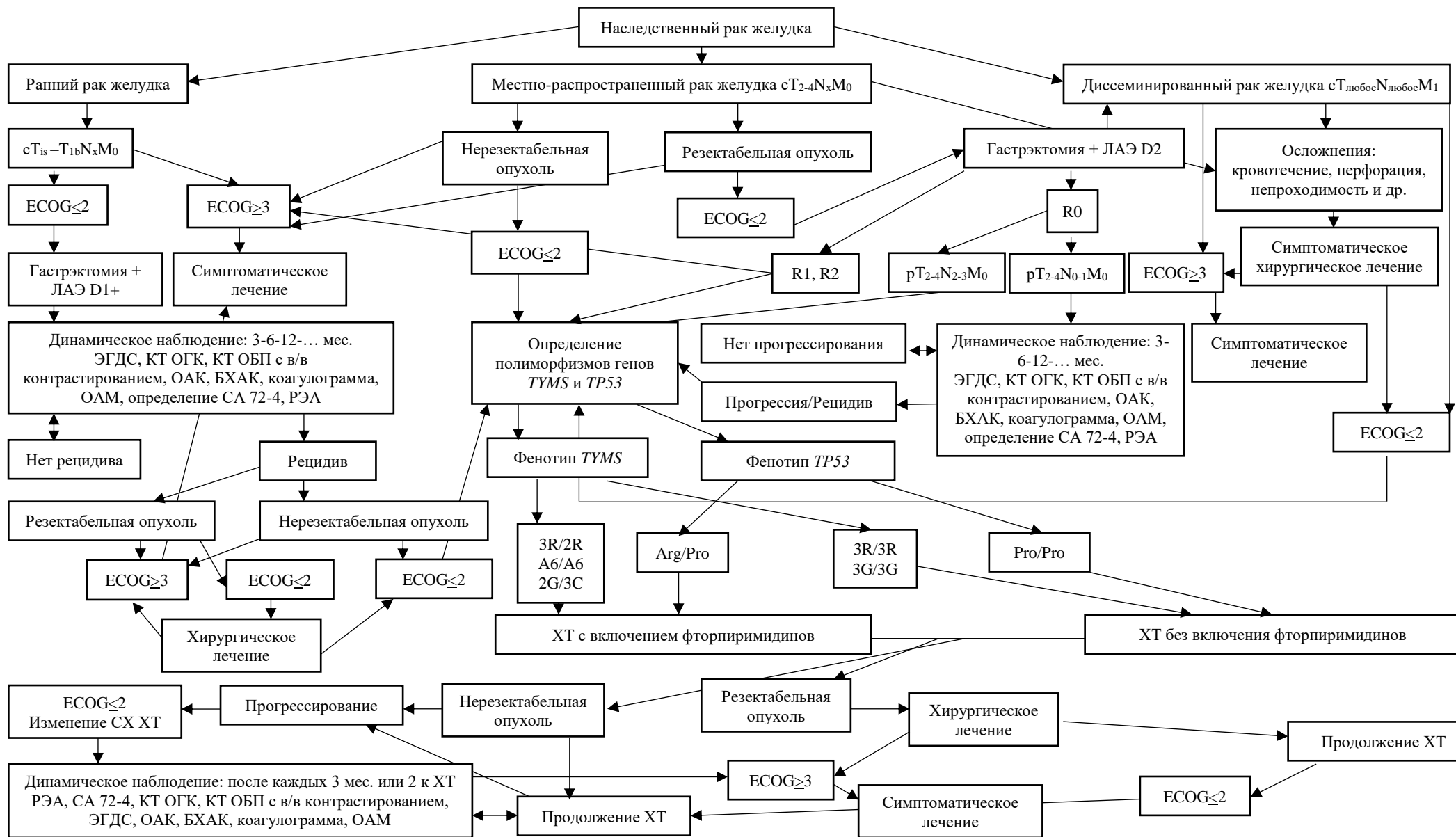


Рисунок 7 – Алгоритм персонализированного подхода к выбору тактики ведения больных с наследственным раком желудка

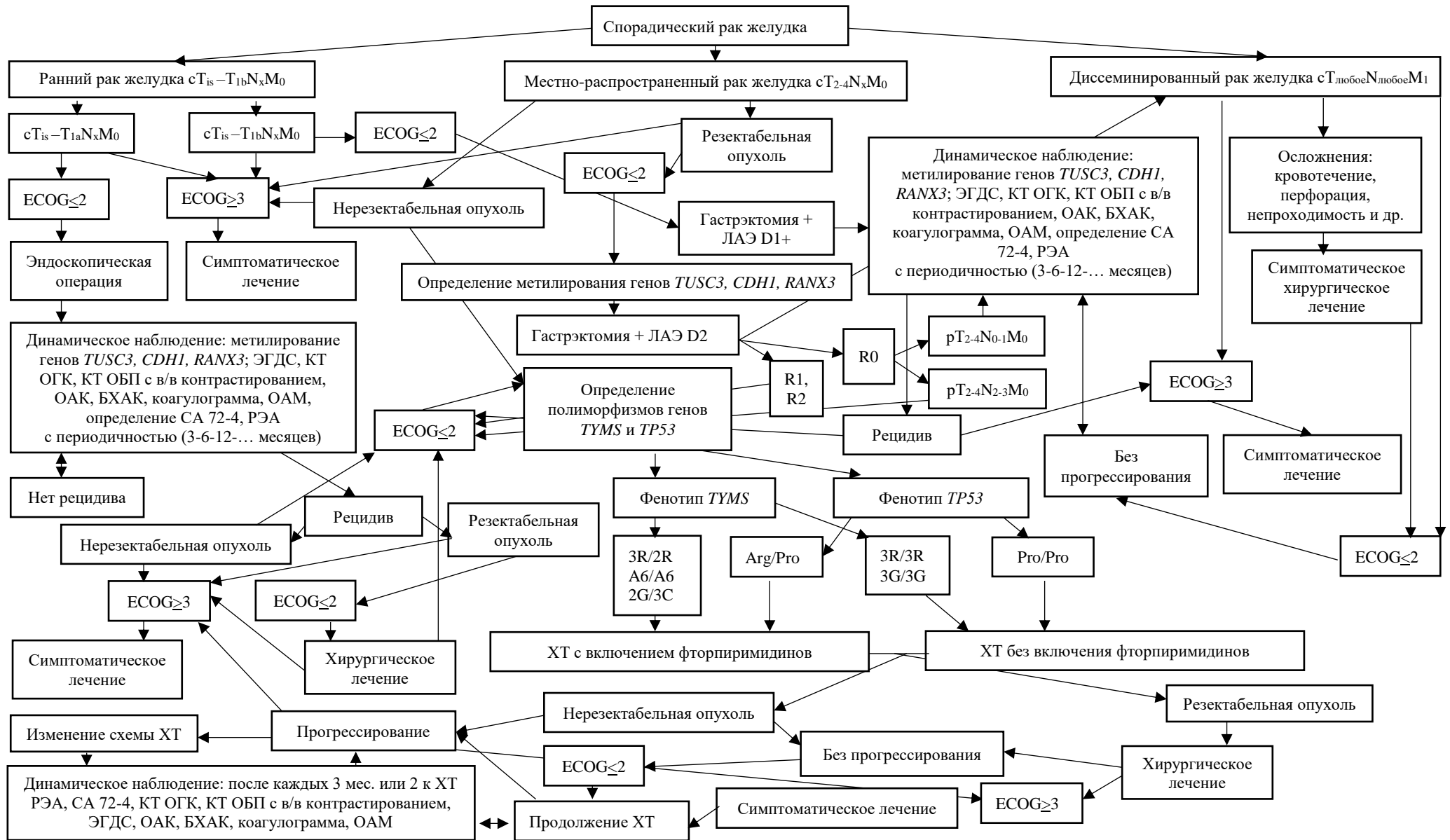


Рисунок 8 – Алгоритм персонализированного подхода к выбору тактики ведения больных со спорадическим раком желудка

В *четвертой главе* обсуждены результаты исследования.

В окончательный анализ вошла оценка аномального метилирования генов *RASSF1A*, *MLH1*, исследование экспрессии генов *BIRC5*, *MMP7*, *hTERT* и активности теломеразы, которые следует использовать для диагностики рака желудка. Доказана возможность использования данных маркеров на этапе дооперационной диагностики в материале, полученном при эндоскопическом исследовании.

Для улучшения результатов лечения больных местно-распространенным раком желудка целесообразна оценка молекулярных факторов, которые определяют индивидуальные различия в фармакодинамике и фармакокинетике лекарственных средств, а также связаны с течением заболевания, прогнозом и ответом на лечение, что позволяет осуществлять оптимальный подход к выбору схемы химиотерапии и определять оптимальную тактику комбинированного лечения для больных раком желудка, так как генотипы 2R/3R (*TYMS*), Arg/Pro и Arg/Arg (*TP53*) связаны с высокой эффективностью схем химиотерапии на основе 5-ФУ, а генотипы 3R/3R (*TYMS*) и Pro/Pro (*TP53*).

Оценка молекулярных маркеров у больных, перенесших различные виды резекции желудка по поводу рака, имеет большое значение и позволяет прогнозировать возможность генерализации опухолевого процесса. Исследование аномального метилирования генов *CDH1*, *TUSC3*, *RUNX3* следует использовать для оценки состояния морфологически неизменной слизистой оболочки культи желудка для динамического наблюдения за больными с целью выявления генерализации опухолевого процесса еще до инструментального ее подтверждения и для своевременной коррекции химиотерапии.

Проведена оценка применения алгоритма, основанного на использовании молекулярных маркеров, для персонализированного ведения больных с предполагаемым диагнозом Рак желудка. Для этого в группу исследования было дополнительно введено 150 пациентов с предполагаемым диагнозом Рак желудка, находившихся на лечении и последующем наблюдении в УКБ №1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский

Университет), а также в химиотерапевтическом отделении №2 отдела лекарственного лечения НИИ Клинической онкологии имени Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России с 2016 по 2021 годы, таким образом, группа исследования к 2021 году составила 950 пациентов.

Данные 150 пациентов были определены как экспериментальная группа, решение о тактике ведения этих пациентов было проведено с использованием разработанного алгоритма персонализированного подхода к лечению больных раком желудка на основе молекулярных маркеров с целью оценки эффективности применения алгоритма на этапах диагностики, лечения и динамического наблюдения. В последующем в экспериментальной группе из 150 пациентов для оценки каждого из компонентов алгоритма было выделено три экспериментальных подгруппы: в первую экспериментальную подгруппу вошло 50 пациентов, у которых маркеры определялись на этапе диагностики из материала, полученного при эндоскопическом исследовании; во вторую экспериментальную подгруппу вошли 50 пациентов, которым проведено определение маркеров и в последующем им было выполнено комбинированное лечение по поводу рака желудка с учетом показателей маркеров; в третью экспериментальную группу включено 50 пациентов, оперированных по поводу первичной опухоли желудка в объеме резекции желудка, а в ходе последующего мониторинга за данными пациентами помимо стандартных исследований выполнялось определение молекулярных маркеров в материале, полученном при эндоскопическом исследовании слизистой культи желудка.

В качестве группы сравнения для экспериментальной группы из группы исследования 800 пациентов, проходивших лечение в ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), а также в химиотерапевтическом отделении №2 отдела лекарственного лечения НИИ Клинической онкологии имени Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России с 2008 по 2016 год было отобрано 511 пациентов, у которых в ходе обследования, лечения и мониторинга не проводилось исследование молекулярных маркеров, а диагностика, лечение и мониторинг

проводились только исходя из клинических рекомендаций.

Соответственно далее для каждой экспериментальной подгруппы из группы сравнения (511 пациентов) были сформированы сравнительные подгруппы: в первую сравнительную подгруппу вошло 50 пациентов, у которых на этапе диагностики исследования молекулярных маркеров не проводилось; во вторую сравнительную подгруппу выделено 50 пациентов, им в дальнейшем проводилось комбинированное лечение по поводу рака желудка, однако исследование молекулярных маркеров не проводилось; в третью сравнительную подгруппу вошло 50 пациентов, которым проведена резекция желудка по поводу первичного опухолевого процесса и в последующем они находились под динамическим наблюдением, при этом исследование молекулярных маркеров в слизистой культе желудка им не проводилось. Таким образом, всем пациентам сравнительных подгрупп не проводилось исследование молекулярных маркеров, которое могло повлиять на тактику ведения.

С целью оценки компонента алгоритма, используемого для персонализации диагностики, проведено сопоставление показателей в первой экспериментальной подгруппе и первой подгруппе сравнения. Основным критерием оценки эффективности диагностики с применением молекулярных маркеров был избран срок установления клинического диагноза. Срок установления клинического диагноза достоверно уменьшился, в среднем по медиане на 4 дня по сравнению со стандартным обследованием данной категории пациентов, это свидетельствует об эффективности диагностического компонента предложенного алгоритма и обеспечивает пациенту возможность получения специализированной или высокотехнологичной помощи в более короткие сроки.

С целью оценки компонента алгоритма, используемого для персонализации подхода к комбинированному лечению, проведено сопоставление показателей во второй экспериментальной подгруппе и второй подгруппе сравнения. Основными критериями оценки эффективности комбинированного лечения рака желудка с применением молекулярных маркеров были избраны показатели время пребывания в стационаре, время пребывания в ОРИТ, безрецидивная выживаемость за три

года и общая выживаемость за три года. Сроки пребывания в стационаре и ОРИТ для экспериментальной подгруппы достоверно меньше, что характеризует эффективность тактики, определяемой дополнительным исследованием молекулярных маркеров в рамках персонализированного подхода к лечению. Достоверное итоговое увеличение трехлетней безрецидивной выживаемости и общей выживаемости для пациентов, у которых тактику лечения определяли с использованием показателей молекулярных маркеров, говорит в пользу повышения эффективности лечения на основе персонализированного подхода, в основу которого заложено исследование молекулярных маркеров.

С целью оценки компонента алгоритма, используемого для персонализации мониторинга и выявления рецидива заболевания, проведено сопоставление показателей в третьей экспериментальной подгруппе и третьей подгруппе сравнения. Основным критерием оценки эффективности диагностики рецидива заболевания с применением молекулярных маркеров был избран срок установления рецидива от момента проведения лечения по поводу первичного опухолевого процесса в сопоставлении с трехлетней общей выживаемостью. Срок установления рецидива заболевания достоверно уменьшился в сравнении со стандартным обследованием у данной категории пациентов, учитывая увеличение трехлетней общей выживаемости пациентов, для мониторинга которых использовались маркеры, помимо стандартного обследования можно сделать заключение об эффективности прогностического компонента предложенного алгоритма. Подытоживая все выше сказанное, алгоритм, основанный на использовании молекулярных маркеров для персонализированного ведения больных с предполагаемым диагнозом Рак желудка, улучшает эффективность ведения как на этапе диагностики, так на этапах лечения и мониторинга.

В *заключении* обобщены результаты проведенной работы. Для адекватной дооперационной оценки молекулярных изменений слизистой у больных раком желудка целесообразно использовать маркеры различных стадий канцерогенеза. Определение метилирования генов *RASSF1A*, *MLH1*, экспрессии генов *MMP7*, *hTERT*, *BIRC5*, а также активности теломеразы следует использовать для

персонализированной диагностики рака желудка в сочетании с другими методами исследования, что было доказано введением данных показателей в диагностический компонент алгоритма выбора персонализированного подхода к лечению больных раком желудка на основе молекулярных маркеров и достоверно привело к уменьшению срока установления клинического диагноза, что в дальнейшем повлияло на эффективность лечения.

Оценка полиморфизмов генов *TUMS* и *TP53* в качестве критерия выбора терапии в рамках алгоритма персонализированного ведения больных раком желудка в сочетании с другими оценочными факторами является целесообразным, что было доказано введением данных показателей в алгоритм и достоверно привело к уменьшению количества осложнений, уменьшению срока госпитализации и пребывания пациента в ОРИТ, а также достоверно увеличило трехлетнюю безрецидивную выживаемость и трехлетнюю общую выживаемость больных раком желудка.

Определение метилирования генов *TUSC3*, *CDH1*, *RUNX3* в качестве критерия возможного показателя рецидива болезни после проведенного лечения по поводу первичного опухолевого процесса в рамках алгоритма персонализированного ведения больных раком желудка в сочетании с другими оценочными факторами является целесообразным, что было доказано введением данных показателей в алгоритм, достоверно привело к уменьшению срока выявления рецидива заболевания и достоверно увеличило трехлетнюю общую выживаемость больных раком желудка.

На настоящем уровне развития медицины улучшение результатов лечения больных раком желудка во многом связано с применением персонализированного подхода. Данный подход должен быть применен как на этапе диагностики заболевания, использован в ходе лечения, а также быть осуществлен при дальнейшем наблюдении за пациентом. Одним из основных инструментов данного персонализированного подхода являются молекулярные маркеры, основанные на использовании ДНК-технологий.

В ходе собственного исследования разработана система маркеров для

реализации персонализированного подхода к лечению больных раком желудка, которая внедрена в практику и заложена в алгоритм ведения пациентов.

Данная система хорошо зарекомендовала себя на всех этапах ведения пациента, от момента диагностики, проводимого лечения и до последующего мониторинга в отдаленном послеоперационном периоде.

В окончательном варианте в данную систему вошли следующие показатели: метилирование генов *RASSF1A*, *MLH1*, экспрессия генов *MMP7*, *hTERT*, *BIRC5*, а также активность теломеразы, определяемые при подозрении на рак желудка с целью улучшения диагностики, оценка полиморфизмов генов *TYMS* и *TP53*, при подтверждении диагноза Рак желудка с целью выбора адекватной комбинированной терапии; метилирование генов *CDH1*, *TUSC3*, *RUNX3*, определяемые в рамках динамического наблюдения за пациентами, которым проведено лечение по поводу рака желудка, с целью оценки прогноза, исключения рецидива и генерализации опухолевого процесса в отдаленном послеоперационном периоде для более раннего выявления рецидива. Данные маркеры легли в основу алгоритма выбора персонализированного подхода к ведению больных раком желудка и повысили эффективность лечения данной категории больных путем его использования.

ВЫВОДЫ

1. Проведен анализ молекулярных маркеров, используемых в определении тактики ведения пациентов с онкологическими заболеваниями, выбраны маркеры, которые возможно использовать у пациентов с предполагаемым диагнозом Рак желудка.
2. Разработана методология использования маркеров для оценки молекулярных изменений с целью персонализации хирургического и комбинированного методов лечения больных с предварительным диагнозом Рак желудка, включающая метилирование генов *RASSF1A*, *MLH1*, а также экспрессию генов *hTERT*, *MMP7*, *BIRC5*, активность теломеразы, исследуемых в биоптатах, полученных при

эндоскопическом исследовании, на этапе дооперационного обследования, оценку полиморфных вариантов генов *TYMS* и *TP53* на этапе установления диагноза Рак желудка, и определения метилирования генов *TUSC3*, *CDH1* и *RUNX3* в слизистой культы желудка на этапе послеоперационного мониторинга.

3. В ходе проведенного исследования определено, что уровни метилирования генов *RASSF1A*, *MLH1*, экспрессии генов *hTERT*, *MMP7*, *BIRC5*, активности теломеразы в опухоли желудка достоверно выше, чем в морфологически нормальной окружающей слизистой желудка, а также по отношению к группе контроля (биоптаты пациентов с ЖКБ), и ассоциированы с клинико-морфологическими характеристиками, такими как размер опухоли, степень ее дифференцировки и стадия онкопроцесса, что на молекулярном уровне отличает опухолевую ткань от нормальной слизистой желудка.

4. Исследование отсроченного метилирования генов *TUSC3*, *CDH1* и *RUNX3* показало достоверную связь на молекулярном уровне данных показателей с риском рецидива онкопроцесса, что является ранним предвестником плохого прогноза до этапа клинических проявлений рецидива заболевания.

5. Метилирование гена *DAPK* статистически достоверно связано с поражением лимфатических узлов, полиморфные варианты генов *TYMS* (3R/3R) и *TP53* (Pro/Pro) статистически достоверно чаще встречаются у пациентов с рецидивом заболевания в течение 3-х лет после проведенного лечения, метилирование генов *TUSC3*, *CDH1* и *RUNX3* статистически достоверно связано с возникновением рецидива заболевания после проведенного лечения, что следует учитывать при определении тактики ведения больных раком желудка.

6. Полиморфизмы генов, отвечающих за синтез ферментов, метаболизирующих фторпиримидины, у больных местно-распространенным раком желудка достоверно связаны с характеристиками первичной опухоли желудка, вторичным поражением локо-регионарных лимфатических узлов, а также с выживаемостью пациентов, которым проведено комбинированное лечение, сочетающее использование схем химиотерапевтического лечения с включением в них

фторпиримидинов и хирургическое лечение R0, что следует использовать в рамках персонализированного подхода в лечении больных раком желудка.

7. Для оценки изменений слизистой оболочки желудка с целью персонализации диагностики, лечения и мониторинга пациентов с диагнозом Рак желудка разработана система молекулярных маркеров, включающая следующие маркеры: метилирование генов *RASSF1A*, *MLH1*, *DAPK*, *TUSC3*, *CDH1*, *RUNX3*, экспрессия генов *hTERT*, *MMP7*, *BIRC5*, активность теломеразы.

8. Для предоперационной диагностики рака желудка с использованием молекулярных маркеров целесообразно использовать биопсийный материал, полученный в результате дооперационного эндоскопического исследования. Количество ДНК, РНК и белка, получаемое из эндоскопически взятого образца, достаточно для проведения серии молекулярных исследований.

9. Разработан алгоритм выбора персонализированного подхода к лечению больных раком желудка на основе использования созданной панели молекулярных маркеров, включающей метилирование генов *RASSF1A*, *MLH1*, а так-же экспрессию генов *hTERT*, *MMP7*, *BIRC5*, активность теломеразы, исследуемых в биоптатах, полученных при эндоскопическом исследовании, на этапе дооперационного обследования, оценку полиморфных вариантов генов *TYMS* и *TP53* на этапе установления диагноза Рак желудка и определение метилирования генов *TUSC3*, *CDH1* и *RUNX3* в слизистой культи желудка на этапе послеоперационного мониторинга.

10. Апробирован и внедрен в клиническую практику унифицированный алгоритм персонализированного подхода, основанный на молекулярных маркерах диагностики, лечения и мониторинга больных раком желудка, при этом показано, что его использование улучшает результаты лечения больных раком желудка, повышая его эффективность.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов с предварительным диагнозом Рак желудка параллельно с морфологическим исследованием тканевого материала, полученного при эндоскопическом исследовании, необходимо проводить анализ молекулярных маркеров, что является основой для персонализированного подхода к определению тактики ведения пациента. При этом возможно получение дополнительной диагностической информации в сомнительной клинической ситуации, что достоверно сокращает сроки постановки клинического диагноза.
2. Для дооперационной дифференциальной диагностики у пациентов с предварительным диагнозом Рак желудка могут быть использованы следующие молекулярные маркеры — метилирование генов *RASSF1A*, *MLH1*, экспрессия генов *MMP7*, *hTERT*, *BIRC5* и активность теломеразы.
3. Определение экспрессии генов *hTERT*, *BIRC5*, а также активности теломеразы являются наиболее информативными тестами в диагностике рака желудка, а определение экспрессии *MMP7* — наиболее перспективно при диагностике онкопроцесса этой локализации.
4. Экспрессия гена *hTERT* показывает наибольшую вероятность злокачественного заболевания у пациентов с положительным результатом теста.
5. У соматически отягощённых пациентов с локорегионарным опухолевым поражением желудка можно проводить органосохраняющую операцию в объеме удаления части желудка в сочетании с лимфаденэктомией в объеме D2 при условии чистоты краев резекции для уменьшения количества осложнений, что доказано использованием алгоритма персонализированного подхода, основанного на применении молекулярных маркеров.
6. Проведение органосохраняющих операций в объеме удаления части желудка в сочетании с лимфаденэктомией в объеме D2 при условии чистоты краев резекции у соматически отягощённых пациентов с локорегионарным опухолевым поражением, увеличивает продолжительности жизни и трехлетнюю

выживаемость, что доказано использованием алгоритма персонализированного подхода, основанного на применении молекулярных маркеров.

7. Сочетание показателей, описывающих онкопроцесс, как то, структура и типирование первичной опухоли, в сочетании соматическими характеристиками пациента и генотипированием, являются маркерами прогноза индивидуального течения онкопроцесса у пациентов с локорегионарным поражением желудка, получивших радикальное хирургическое лечение.

8. Генотипирование можно использовать для определения эффективности адъювантной химиотерапии на основе фторпиримидинов после радикально выполненного хирургического лечения у больных местно-распространенным раком желудка, что лежит в основе персонализированного подхода в выборе оптимальной тактики комбинированного лечения больного, данное положение доказано использованием алгоритма персонализированного подхода, основанного на применении молекулярных маркеров.

9. Комбинированное лечение в объеме удаления части органа в сочетании с радикальной лимфодиссекцией и адъювантная химиотерапия после соответствующей подготовки у соматически отягощенных пациентов статистически доказано увеличивает продолжительность жизни пациента, что доказано использованием алгоритма персонализированного подхода, основанного на применении молекулярных маркеров.

10. Аномальное метилирование *TUSC3*, *CDH1* и *RANX3* генов в послеоперационном периоде является основой для прогнозирования рецидива и генерализации опухолевого процесса у каждого отдельного пациента после оперативного лечения по поводу первичной опухоли желудка в объеме его резекции.

11. Отсроченное метилирование генов достоверно связано с генерализацией опухолевого процесса, наличием отдаленных метастазов, но не связано с такими характеристиками первичной опухоли как локализация, размер, дифференцировка, инвазивный рост, чистота линии резекции и метастатическим поражением регионарных лимфоузлов.

12. Исследование аномального метилирования генов *CDH1*, *TUSC3* и *RANX3* следует использовать для оценки состояния морфологически неизменной слизистой оболочки культи желудка для персонализированного мониторинга у больных с целью диагностики генерализации опухолевого процесса еще при отсутствии видимых проявлений опухоли и своевременной коррекции адьювантной химиотерапии.

13. Метилирование гена *DAPK*, полиморфные варианты генов *TYMS* (3R/3R) и *TP53* (Pro/ Pro), метилирование генов *TUSC3*, *CDH1* и *RUNX3* могут служить дополнительным фактором расширения объема оперативного лечения у больных раком желудка, при определении данных маркеров целесообразно расширять объем операции на желудке до гастрэктомии, а лимфаденэктомию в объеме не менее, чем D2.

14. Использование разработанного алгоритма персонализированного подхода, основанного на молекулярных маркерах диагностики, лечения и мониторинга больных раком желудка, улучшает результаты лечения больных раком желудка, что диктует необходимость его использования в клинической практике.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Клиническая хирургия: национальное руководство: в 3 т. Агаджанов В.Г., Андрияшкин В.В., Апарцин К.А., Благодарный Л.А., Бурневич С.З., **Быков И.И.**, Вишневский В.А., Воробьев Г.И., Готье С.В., Григорьев Е.Г., Кириенко А.И., Савельев В.С. и др.; под ред. В.С. Савельева, А.И. Кириенко. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – Т. 2. – 2009. – 825 с.
2. Глухов, А.И. Антиапоптотические факторы серивин и теломераза в диагностике рака желудка / А.И. Глухов, О.В. Высоцкая, Л.В. Свиная, О.В. Зимник, **И.И. Быков**, Т.В. Хоробрых // **Молекулярная медицина**. – 2011. – № 1. – С. 35-40.
3. Немцова, М.В. Аномальное метилирование генов *CDH1*, *RASSF1A*, *MLH1*, *N33*, *DAPK* в опухолевом и морфологически неизменном (неопуховом)

эпителии желудка / М.В. Немцова, А.В. Бабаян, **И.И. Быков**, М.В. Майорова, Т.В. Хоробрых, А.Ф. Черноусов, Д.В. Залетаев // **Российский онкологический журнал.** – 2011. – № 5. – С. 21-25.

4. Черноусов, А.Ф. Первый опыт использования маркеров молекулярно-генетической нестабильности слизистой в диагностике рака желудка / А.Ф. Черноусов, Т.В. Хоробрых, **И.И. Быков**, М.В. Немцова, А.И. Глухов, Л.В. Свиная // **Вестник хирургической гастроэнтерологии.** – 2011. – № 4. – С. 13.

5. **Быков, И.И.** Роль молекулярно-генетических маркеров в определении тактики хирургического лечения больных раком желудка // **Сеченовский вестник.** – 2012. – № 1 (7). – С. 59-66.

6. Немцова, М.В. Аллельный дисбаланс локусов 17P13.1 (TP53), 1P36.1 (RUNX3), 16P22 (CDH1) и микросателлитная нестабильность при раке желудка / М.В. Немцова, **И.И. Быков**, А.А. Удилова, Д.В. Залетаев, Т.В. Хоробрых // **Молекулярная биология.** – 2013. – № 47 (5). – С. 835.

7. Немцова, М.В. Молекулярно-генетическая патология при раке желудка / М.В. Немцова, **И.И. Быков**, Н.В. Чекунова, Д.В. Залетаев, А.И. Глухов, Т.В. Хоробрых // **Технологии живых систем.** – 2013. – № 10 (3). – С. 036-047.

8. Немцова, М.В. Системы молекулярно-генетических маркеров при раке желудка / М.В. Немцова, **И.И. Быков**, Н.В. Чекунова, Д.В. Залетаев, А.И. Глухов, Т.В. Хоробрых // **Клиническая лабораторная диагностика.** – 2013. – № 11. – С. 12-15.

9. Черноусов, А. Молекулярно-генетическая диагностика изменений слизистой культуры желудка у больных, перенесших его резекцию по поводу рака в прогнозе генерализации опухолевого процесса / А. Черноусов, Т. Хоробрых, М. Немцова, **И. Быков**, Н. Чекунова // **Вестник хирургической гастроэнтерологии.** – 2013. – № 3. – С. 14-19.

10. Черноусов, А.Ф. Онкомаркеры в лечении больных раком желудка / А.Ф. Черноусов, Т.В. Хоробрых, **И.И. Быков**, М.В. Немцова, А.А. Удилова, А.Б. Бекшоков // **Сеченовский вестник.** – 2013. – № 2 (12). – С. 21-26.

11. Чекунова, Н.В. Молекулярно-генетические изменения в слизистой культе желудка больных, перенесших субтотальную дистальную резекцию желудка по поводу рака / Н.В. Чекунова, **И.И. Быков**, Т.В. Хоробрых, М.В. Немцова // **Технологии живых систем**. – 2014. – № 11 (3). – С. 46-51.
12. Немцова, М.В. Соматические и герминальные мутации при раке желудка / М.В. Немцова, А.С. Танас, Е.А. Алексеева, **И.И. Быков**, Д.В. Залетаев, А.И. Глухов, Т.В. Хоробрых, В.В. Стрельников // **Молекулярная медицина**. – 2015. – № 4. – С. 28-34.
13. Nemtsova, M.V. Implication of Gastric Cancer Molecular Genetic Markers in Surgical Practice / M.V. Nemtsova, V.V. Strelnikov, A.S. Tanas, **I.I. Bykov**, D.V. Zaletaev, V.V. Rudenko, A.I. Glukhov, T.V. Kchorobrich, Y. Li, V.V. Tarasov, G.E. Barreto, G. Aliev // **Curr Genomics**. – 2017. – № 18 (5). – P. 408-415. [Scopus]
14. Генетика в практике хирургического лечения рака желудка: [монография] / А.Ф. Черноусов, Т.В. Хоробрых, М.В. Немцова, **И.И. Быков**. – Москва: Практическая медицина, 2017. – 127 с.
15. **Быков, И.И.** Персонализация лечения больных раком желудка путем использования молекулярно-генетических маркеров / **И.И. Быков**, М.В. Немцова, Т.В. Хоробрых, М.С. Микерова, А.С. Мишин // **Онкология. Журнал им. П.А. Герцена**. – 2018. – № 7 (4). – С. 20-25.
16. **Быков, И.И.** Тактика ведения пациентов с диффузным раком желудка, обусловленным наследственными мутациями / **И.И. Быков**, М.В. Немцова, Т.В. Хоробрых // **В мире научных открытий**. – 2018. – № 10 (4). – С. 88-110.
17. Немцова, М.В. Спектры герминальных и соматических мутаций при диффузном и интерстициальном типах рака желудка / М.В. Немцова, А.И. Калинин, А.С. Танас, Т.В. Хоробрых, **И.И. Быков**, К.И. Кириллова, Е.А. Алексеева, Е.Б. Кузнецова, Д.В. Залетаев, В.В. Стрельников // **Медицинская генетика**. – 2018. – № 17 (11). – С. 11-14.
18. **Bykov, I.** Personalization of treatment for patients with stomach using molecular genetic markers / **I. Bykov**, M. Mikerova, M. Nemtsova, T. Kchorobryh // **Ann Oncol**. – 2018. – № 29 (Suppl. 5). – P. 006.

19. Efimova, I.U. Identification of a spectrum of germline mutations for hereditary diffuse gastric cancer in the Russian population by next-generation sequencing / I.U. Efimova, E. Ignatova, **I. Bykov**, A.I. Kalinkin, A.S. Tanas, E.A. Alekseeva, V.V. Strelnikov, A. Alakunov, E. Kuznetsova, M.V. Nemtsova // *Ann Oncol.* – 2019. – № 30 (Suppl. 5). – v253-v324.
20. Немцова, М.В. Инактивация эпигенетических регуляторов вследствие мутаций в солидных опухолях / М.В. Немцова, Д.С. Михайленко, Е.Б. Кузнецова, **И.И. Быков**, А.А. Замятнин // *Биохимия.* – 2020. – № 85 (7). – С. 863-878.
21. Решетов, И.В. Оценка молекулярных изменений в слизистой оболочке, приближенной к краю резекции, после оперативного лечения по поводу рака желудка / И.В. Решетов, **И.И. Быков**, М.С. Микерова, М.В. Немцова // *Тихоокеанский медицинский журнал.* – 2020. – № 4 (82). – С. 73-75.
22. Nemtsova, M.V. Clinical relevance of somatic mutations in main driver genes detected in gastric cancer patients by next-generation DNA sequencing / M.V. Nemtsova, A.I. Kalinkin, E.B. Kuznetsova, I.V. Bure, E.A. Alekseeva, **I.I. Bykov**, T.V. Khorobrykh, D.S. Mikhaylenko, A.S. Tanas, S.I. Kutsev, D.V. Zaletaev, V.V. Strelnikov // **Sci Rep.** – 2020. – № 10 (1). – P. 504. [**Scopus**].
23. **Патент на изобретение № 2713907**, Российская Федерация. Способ персонализации медицинской помощи пациентам с раком желудка / **Быков И.И.**, Решетов И.В., Немцова М.В. – 2019138059, заявл. 26.11.2019, **опубл. 11.02.2020**, **Бюл. №5**.
24. Nemtsova, M.V. Mutations in Epigenetic Regulation Gens in Gastric Cancer / M.V. Nemtsova, A.I. Kalinkin, E.B. Kuznetsova, I.V. Bure, E.A. Alekseeva, **I.I. Bykov**, T.V. Khorobrykh, D.S. Mikhaylenko, A.S. Tanas, V.V. Strelnikov // **Cancers (Basel).** – 2021. – № 13 (18). – P. 4586. [**Scopus**]
25. Киселева, А.Э. Клиническое значение мутации гена CDH1 при раке желудка / А.Э. Киселева, А.Ф. Зезюлина, М.С. Микерова, **И.И. Быков**, И.В. Решетов // *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена.* – 2022. – № 11(2). – С. 74-79.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

5-ФУ – 5-фторурацил

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ДИ – доверительный интервал

КТ – компьютерная томография

МРТ – магнитно-резонансная томография

МСКТ – мультиспиральную компьютерную томографию

ОАК – общий анализ крови

ОАМ – общий анализ мочи

ОБП – органы брюшной полости

ОГК – органы грудной клетки

ОПОР – отношение правдоподобия отрицательного результата

ОППР – отношение правдоподобия положительного результата

ОриИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии

ОЩДТ – отношение шансов диагностического теста

ПЦОР — прогностическая ценность отрицательного результата

ПЦПР — прогностическая ценность положительного результата

ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография

РФФИ – российский фонд фундаментальных исследований

РЭА – раковый эмбриональный антиген

СА-19-9 – раковый антиген

СА-72-4 – раковый антиген

УЗИ – ультразвуковое исследование

УКБ №1 – университетская клиническая больница №1

ФВД – функции внешнего дыхания

ЭГДС – эзофагогастродуоденоскопия

ЭКГ – электрокардиограмма

ЭХОкг – эхокардиография