

На правах рукописи



Августинovich Александра Владимировна

**ПЕРСОНИФИЦИРОВАННЫЙ ПОДХОД К КОМБИНИРОВАННОМУ
ЛЕЧЕНИЮ РАКА ЖЕЛУДКА**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

3.3.3. Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой
степени доктора медицинских наук

Томск 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор
Афанасьев Сергей Геннадьевич,
доктор медицинских наук, доцент
Спирина Людмила Викторовна

Официальные оппоненты:

**Тер-Ованесов Михаил
Дмитриевич**

доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра онкологии и лучевой терапии, заведующий.

**Рябов Андрей
Борисович**

доктор медицинских наук, профессор, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии», отдел торакоабдоминальной онкохирургии, руководитель.

**Каплиева Ирина
Викторовна**

доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, испытательный лабораторный центр, заведующий.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург.

Защита состоится «___» _____ 2026 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.215.06 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» по адресу: г. Томск, пер. Кооперативный, 5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта: <http://tnimc.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2026 г.



Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

А.А. Медведева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

В последние десятилетия отмечается тенденция к снижению заболеваемости раком желудка (РЖ) (Каприн А.Д., 2023, Bray F., 2024). Вместе с тем современная онкологическая ситуация характеризуется рядом неблагоприятных особенностей, включая увеличение доли пациентов молодого возраста и сохраняющуюся высокую частоту первичного выявления заболевания на поздних стадиях (Пугаев Д.М., 2023). Поздняя диагностика ограничивает возможности радикального хирургического лечения, поскольку операции нередко носят условно радикальный характер, что негативно сказывается на отдаленных результатах (Каприн А.Д., 2023).

На сегодняшний день хирургический метод остается основным в лечении рака желудка. Однако даже выполнение радикальных вмешательств с расширенной лимфодиссекцией (свыше D2) не обеспечивает предотвращения развития отдаленных метастазов. Ограниченность исключительно хирургического подхода обуславливает необходимость применения системной противоопухолевой терапии. Несмотря на данные международных исследований (Al-Batran S.E., 2017), подтверждающих эффективность химиотерапии при резектабельном РЖ, ее результаты остаются недостаточными, что во многом связано с развитием лекарственной устойчивости и последующим прогрессированием заболевания.

В последние годы периоперационная полихимиотерапия по схеме FLOT заняла прочное место в клинической практике. Данный подход включен в международные и отечественные рекомендации, включая рекомендации Ассоциации онкологов России и RUSSCO, и применяется у пациентов с РЖ при стадии опухолевого процесса более T1.

Несмотря на патогенетическую обоснованность комбинированных методов лечения, направленных на уменьшение стадии заболевания и улучшение прогноза, их широкое внедрение ограничено. Ключевыми факторами, сдерживающими применение данных подходов, являются риск прогрессирования заболевания на фоне отсрочки хирургического лечения, а также невозможность реализации стандартных протоколов у пациентов с осложненным течением РЖ (Хомяков В.М., 2020).

Результаты рандомизированного исследования, выполненного группой немецких авторов под руководством Al-Batran S.E. и опубликованного в 2017 году, продемонстрировали преимущества периоперационной полихимиотерапии по схеме FLOT по сравнению с ранее применявшимися режимами. Наиболее частым нежелательным явлением, обусловленным многокомпонентностью схемы, являлась гематологическая токсичность, преимущественно в виде нейтропении различной степени выраженности. В качестве нового стандарта была предложена схема FLOT в режиме 4+4, предусматривающая проведение четырех курсов в неоадьювантном и четырех – в адьювантном режиме. Показаниями к ее применению являются резектабельные формы РЖ со стадией cT>1N0 и TлюбоеN+.

Согласно предложенному протоколу, начало адъювантной терапии рекомендуется через 4-6 недель после хирургического вмешательства, независимо от степени выраженности лечебного патоморфоза. При этом показано, что проведение предоперационной полихимиотерапии не ухудшает непосредственные результаты хирургического лечения и течение раннего послеоперационного периода. Однако существенным ограничением данного подхода является низкая реализуемость послеоперационного этапа лечения. В рамках указанного исследования значительная часть пациентов не получила запланированные курсы адъювантной химиотерапии в полном объеме. Это, вероятно, связано с травматичностью хирургического вмешательства (в том числе гастрэктомии), развитием пострезекционных нарушений, а также ухудшением общего соматического статуса пациентов. В результате многие больные отказываются от послеоперационного лечения в связи с его неудовлетворительной переносимостью (Shitara K., 2022).

В связи с этим в настоящее время активно обсуждается возможность переноса части или всего объема послеоперационной терапии в предоперационный этап (Седова М.В., 2023, KiKili S., 2026). Одним из ключевых преимуществ данного подхода является возможность объективной оценки ответа опухоли на проводимое лечение.

Современные подходы к лечению рака желудка, включая неметастатические формы, характеризуются расширением арсенала лекарственных средств. Улучшение результатов лечения в значительной степени связывается с углублением понимания биологии опухоли и внедрением принципов персонализированной терапии. В настоящее время выделено несколько молекулярных подтипов РЖ, клиническая значимость которых различается в зависимости от частоты выявления потенциальных терапевтических мишеней. Стратификация пациентов в соответствии с молекулярными характеристиками опухоли открывает возможности для назначения таргетной и иммунотерапии, что в ряде случаев обеспечивает более высокую эффективность и благоприятный профиль безопасности по сравнению с цитостатической терапией (Janjigian Y., 2025).

По данным литературы, более чем в 30 % опухолей желудка выявляется амплификация или гиперэкспрессия гена HER2neu (Bang Y. J., 2010), что позволяет рассматривать анти-HER2-терапию как один из вариантов лечения данной категории пациентов. Эффективность данного подхода продемонстрирована при метастатическом РЖ (Gianni L., 2010, Nishikawa K., 2017, Chung H., 2021). В настоящее время проводятся исследования II–III фаз, направленные на изучение эффективности таргетной терапии при локализованных формах заболевания.

Одним из ключевых направлений современной онкологии является применение ингибиторов контрольных точек иммунного ответа, в частности блокада оси PD-1/PD-L1 (Reck M. et al., 2016; O'Brien M. et al., 2022). Механизм действия данных препаратов связан с преодолением иммуносупрессивного влияния опухоли и восстановлением цитотоксической активности Т-лимфоцитов. Клиническая значимость иммунотерапии при РЖ подтверждается наличием корреляции между

уровнем экспрессии PD-L1 (индекс CPS) и терапевтическим ответом, что позволяет рассматривать данный подход как важный компонент персонализированного лечения (Chen M., 2023, Fuchs C., 2022). Экспрессия PD-L1 опухолевыми клетками способствует уклонению от иммунного надзора. При этом при неметастатических формах РЖ применение иммунотерапии в настоящее время преимущественно изучается в рамках клинических исследований. Единая стратегия ведения данной категории пациентов и четко сформулированный алгоритм персонализированного лечения на сегодняшний день отсутствуют.

Кроме того, развитие резистентности к лекарственной терапии изначально связано с высокой активностью аутофагии. Двойной контроль осуществляется через антагонистическое взаимодействие двух регуляторов: mTOR, активируемой через сигнальный путь PI3K/АКТ и подавляющей аутофагию при избытке энергии, и АМРК, которая при энергетическом дефиците фосфорилирует и ингибирует mTOR, запуская ответную реакцию, так же он интегрирует противоположные сигналы от двух ключевых энергетических сенсоров. Последующее формирование аутофагосомы проходит строго упорядоченные этапы: инициацию нуклеации мембраны, элонгацию за счёт конъюгационных систем Atg и завершающее закрытие мембраны. В литературе известно, что поддержание клеточного гомеостаза зависит от взаимодействия между апоптозом и аутофагией, и нарушение любого из этих процессов может способствовать развитию онкологического процесса. Показано, что аутофагия может инициироваться при инфицировании бактерией *Helicobacter pylori*. Хроническое воспаление является пусковым механизмом, который способен индуцировать клеточную неоплазию. Таким образом изучение новых подходов, а также поиск дополнительных прогностических маркеров, возможно в будущем помогут предсказывать развитие данного явления и оценить его роль в онкогенезе. Дальнейшее изучение компонентов АКТ/mTOR сигнального каскада необходимо, ещё и потому, что он может быть связан с развитием резистентности опухоли к тому или иному виду лекарственной терапии (Pan Z, 2023).

Степень разработанности темы исследования

В современной онкологии ключевое внимание уделяется детальному изучению генетического профиля опухоли, что позволяет реализовывать принципы персонализированной медицины. Молекулярно-генетическое профилирование дает возможность объяснить различия в клиническом течении морфологически сходных новообразований и обосновать выбор терапевтической тактики на основе индивидуальных биомаркеров.

Выявление специфических молекулярных маркеров позволяет отходить от унифицированных схем лечения и формировать персонализированные подходы с учетом чувствительности опухоли к определенным видам терапии. Вместе с тем, распространенность клинически значимых биомаркеров при раке желудка остается относительно невысокой: гиперэкспрессия HER2 выявляется в 10-32 % случаев (Bang

Y. J., 2010), экспрессия PD-L1 – в 27-59 %, микросателлитная нестабильность – в 8-18 % (Трякин А.А., 2023; Janjigian Y.Y., 2022; Shitara K., 2024).

В последние годы показания к проведению периоперационной химиотерапии у больных операбельным раком желудка существенно расширились и включены в современные клинические рекомендации. Однако ряд принципиальных вопросов остается нерешенным, включая раннее прогрессирование заболевания и возможность прогнозирования ответа опухоли на проводимую терапию.

Существенной проблемой клинической практики является недостаточная реализация полного объема периоперационного лечения, в первую очередь за счет невыполнения послеоперационного этапа терапии. В этой связи особую актуальность приобретает концепция переноса всех курсов лекарственного лечения на предоперационный этап, что позволяет обеспечить высокую комплаентность, оценить эффективность терапии *in vivo* и, при необходимости, скорректировать лечебную тактику.

Реализация полного объема запланированного лечения направлена на элиминацию микрометастатических очагов, не определяемых при стандартных методах диагностики, и, таким образом, является ключевым фактором улучшения отдаленных результатов лечения.

Цель исследования

Разработать и внедрить в клиническую практику новые схемы комбинированного лечения больных операбельным раком желудка, включающие различные режимы цитостатической, таргетной и иммунотерапии в сочетании с радикальным хирургическим вмешательством, с учетом молекулярно-генетических особенностей опухоли.

Задачи исследования

1. Провести клиническую апробацию новых схем предоперационной лекарственной терапии у больных раком желудка.
2. Определить частоту и степень выраженности нежелательных явлений у больных РЖ на этапах комбинированного лечения.
3. Изучить непосредственную эффективность комбинированного лечения в зависимости от схемы терапии.
4. Оценить отдаленные результаты тотальной предоперационной терапии по схемам FLOT8, FLOT8+иммуно/таргетная терапия в сравнении с периоперационной химиотерапией по схеме FLOT 4+4 и хирургическим лечением.
5. Исследовать экспрессию компонентов АКТ/m-TOR сигнального пути, содержания белков, ассоциированных с аутофагией в ткани опухоли у пациентов с

РЖ в зависимости от клинико-морфологических особенностей опухоли до начала комбинированного лечения и на операционном материале.

6. Провести анализ непосредственной эффективности предоперационной терапии с учётом экспрессии компонентов АКТ/m-TOR сигнального пути, содержания белков, ассоциированных с аутофагией в ткани опухоли желудка.

7. Исследовать распределение мутаций, ассоциированных с ответом опухоли на терапию и изучить их связь с клинико-морфологическими особенностями опухоли.

8. Оценить взаимосвязь между молекулярно-генетическими характеристиками опухоли (включая мутационный профиль) и эффективностью проводимого лечения.

9. Исследовать экспрессию транскрипционных, ростовых факторов, компонентов АКТ/mTOR сигнального пути, а также белка LC3В ткани опухоли желудка в зависимости от инфицирования *Helicobacter pylori* и вируса Эпштейна-Барр.

10. Разработать логистическую модель, предсказывающую эффективность лечения у больных раком желудка.

11. Разработать персонифицированный алгоритм комбинированного лечения больных раком желудка.

Научная новизна

Впервые на основании комплексного клинико-морфологического и молекулярно-биологического анализа разработан алгоритм выбора схемы предоперационного лечения больных операбельным раком желудка с учетом морфологических и молекулярно-биологических особенностей опухоли, включая HER2-статус, PD-L1-статус, параметры сигнального пути АКТ/mTOR и уровень белков, ассоциированных с аутофагией.

Впервые в условиях применения тотальной предоперационной лекарственной терапии у больных операбельным раком желудка выполнен комплексный анализ особенностей хирургического этапа лечения, непосредственных и отдаленных результатов, а также оценена возможность выполнения расширенных радикальных операций после завершения предоперационного лекарственного воздействия.

Впервые на клиническом материале показано, что применение тотальной предоперационной терапии, включающей химиотерапию, а в соответствующих клинических и молекулярно-биологических подгруппах – иммуно- и таргетную терапию, в сочетании с радикальным хирургическим лечением у больных операбельным раком желудка сопровождается увеличением частоты полной морфологической регрессии первичной опухоли (TRG1 по Mandard A.M.) по сравнению со стандартной периоперационной схемой FLOT 4+4. Установлено, что дополнительное включение таргетной или иммунной терапии к схеме FLOT8 с учетом

молекулярного профиля опухоли ассоциировано с дальнейшим увеличением частоты полного патоморфологического ответа.

Впервые показано, что применение персонифицированного подхода к выбору предоперационной терапии у больных операбельным раком желудка ассоциировано с улучшением отдаленных результатов лечения, включая показатели общей трехлетней выживаемости, по сравнению со стандартной периоперационной химиотерапией и хирургическим лечением без использования персонализированного лекарственного компонента.

Установлено, что изменение экспрессии компонентов сигнального пути АКТ/mTOR, киназы AMPK и белка LC3B на различных этапах комбинированного лечения связано с формированием лекарственной резистентности рака желудка, что расширяет представления о патофизиологических механизмах устойчивости опухоли к проводимой терапии.

Впервые показано, что мутационный профиль опухоли, в том числе отсутствие мутаций в ряде ключевых генов, ассоциирован с вероятностью достижения выраженного патоморфологического ответа у больных операбельным раком желудка, получающих комбинированное лечение.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные в ходе исследования результаты расширяют современные представления о патофизиологических механизмах формирования лекарственной резистентности рака желудка и роли молекулярно-генетических факторов в определении эффективности комбинированного лечения. Установлены взаимосвязи между экспрессией компонентов сигнального пути АКТ/mTOR, белков, ассоциированных с аутофагией, статусом PD-L1, HER2neu и клинικο-морфологическими характеристиками опухоли, что позволяет уточнить биологические основы вариабельности ответа на проводимую терапию.

Показано значение мутационного статуса опухоли, в том числе мутаций гена *TP53*, в формировании чувствительности к лекарственной терапии и прогнозе заболевания, что дополняет существующие представления о молекулярных детерминантах течения рака желудка.

Практическая значимость работы заключается в разработке и внедрении в клиническую практику персонифицированного алгоритма комбинированного лечения больных операбельным раком желудка, основанного на учете молекулярно-генетических и клинικο-морфологических особенностей опухоли. Алгоритм предусматривает применение тотальной предоперационной лекарственной терапии с возможным включением иммунных и таргетных препаратов в зависимости от молекулярного профиля опухоли и факторов прогноза.

Определен профиль токсичности тотальной комбинированной лекарственной терапии, а также сформулированы критерии отбора пациентов для данного вида

лечения, что позволяет повысить безопасность и обоснованность применения данного подхода в клинической практике.

Показано, что перенос всех курсов лекарственной терапии на предоперационный этап у больных раком желудка сопровождается повышением комплаентности лечения до 93,9 %, что имеет существенное значение для реализации полной программы комбинированного лечения.

На основании анализа экспрессии компонентов сигнального пути АКТ/mTOR разработана математическая модель прогнозирования риска прогрессирования заболевания, обладающая высокой диагностической значимостью и потенциально применимая для стратификации пациентов и индивидуализации лечебной тактики.

Методология и методы исследования

В рамках настоящего исследования были изучены различные режимы лекарственной терапии у больных операбельным раком желудка.

В качестве базовой схемы химиотерапии применялась схема FLOT, включающая доцетаксел (50 мг/м² внутривенно капельно), оксалиплатин (85 мг/м² внутривенно капельно), кальция фолиат (200 мг/м² внутривенно капельно) и 5-фторурацил (2600 мг/м² в виде 24-часовой внутривенной инфузии) с интервалом между курсами 14 дней.

При PD-L1-позитивных опухолях дополнительно применялся пембролизумаб в дозе 200 мг 1 раз в 3 недели или 400 мг 1 раз в 6 недель. При HER2-положительных опухолях назначался трастузумаб в дозе 4 мг/кг (нагрузочная доза – 6 мг/кг) с введением в 1-й день курса.

Оценка нежелательных явлений проводилась в соответствии с Общими терминологическими критериями нежелательных явлений (СТСАЕ, версия 5.0).

Объем хирургического вмешательства определялся в зависимости от локализации опухоли в желудке. Во всех случаях выполнялись радикальные операции с достижением R0-резекции и проведением стандартной лимфодиссекции D2.

Оценка лечебного патоморфоза проводилась на операционном материале по шкале A. Mandard.

Статистическая обработка данных выполнялась с использованием программного обеспечения SPSS Statistics 24.0 и GraphPad Prism 10.0.

Методология диссертационной работы основана на применении современных молекулярно-биологических методов анализа, направленных на количественную оценку экспрессии генов и белков в опухолевой и условно нормальной ткани.

Определение уровня белков осуществлялось методом вестерн-блоттинга.

Количественная и аллель-специфическая полимеразная цепная реакция (ПЦР) проводилась с использованием стандартных протоколов амплификации нуклеиновых кислот с предварительным дизайном специфичных праймеров для исследуемых генов-мишеней.

Таргетное секвенирование генов-онкосупрессоров и онкогенов выполнялось с использованием универсальной панели.

Методологический подход включал анализ ассоциативных связей между молекулярно-биологическими характеристиками первичной опухоли, ее клиничко-морфологическими параметрами и особенностями течения заболевания с целью оценки их прогностической значимости.

Полученные результаты были обработаны с использованием адекватных методов статистического анализа.

Положения, выносимые на защиту

1. При сравнении нежелательных явлений лекарственной терапии по схемам FLOT8, FLOT8 в сочетании с иммуно- или таргетной терапией и FLOT 4+4 установлено, что профили токсичности являются сопоставимыми. Перенос всех курсов лекарственной терапии на предоперационный этап не оказывает отрицательного влияния на течение периоперационного периода.
2. Проведение тотальной предоперационной терапии с учетом молекулярно-генетических особенностей опухоли ассоциировано с улучшением отдаленных результатов лечения, включая показатели трехлетней общей и безрецидивной выживаемости, по сравнению со стандартными схемами комбинированного лечения и хирургическим вмешательством.
3. Установлено, что молекулярно-генетический профиль опухоли, включая отсутствие мутаций в ряде генов (*KRAS*, *PIK3CA*, *TP53*, *ERBB2*, *MAPK*, *SMAD4*, *CTNNB1*), ассоциирован с более высокой вероятностью достижения выраженного патоморфологического ответа на проводимую терапию. У данной категории пациентов отмечается более высокая частота полной морфологической регрессии опухоли, что свидетельствует о роли нарушений ключевых сигнальных путей (*RAS/RAF/MEK/ERK* и *PI3K/AKT/mTOR*) в формировании чувствительности опухоли к лечению.
4. Показано, что мутационный статус гена *TP53* ассоциирован с особенностями течения опухолевого процесса и эффективностью проводимой терапии у больных раком желудка, что указывает на его значимую роль в регуляции молекулярных механизмов опухолевой прогрессии, включая процессы ангиогенеза и иммунного ответа, через направленное изменение экспрессии генов *VEGFR2*, *PD-L1*, *PD-L2*, *VHL* и *PD-1*.

Степень достоверности и апробация результатов работы

Достоверность полученных результатов обеспечивается репрезентативностью выборки пациентов, применением современных методов клиничко-морфологического, иммуногистохимического и молекулярно-генетического анализа, а также использованием сертифицированного высокотехнологичного оборудования.

Обоснованность выводов подтверждается применением адекватных методов статистической обработки данных, обеспечивающих достижение статистической значимости выявленных различий.

Основные положения и результаты диссертационного исследования доложены и обсуждены на ряде научных мероприятий, в том числе: II онлайн-марафоне «Онлайн-осень 2021» (Москва, 2021), международной научно-практической конференции «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» (Томск, 2021), Съезде онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии (Астана, 2022), международной конференции «Генетические технологии в трансляционной биомедицине» (Томск, 2022), V Юбилейном Международном форуме онкологии и радиологии «For Life 2022» (Москва, 2022), заседаниях Томского областного общества онкологов (Томск, 2023, 2025), IV международном онлайн-марафоне «Онлайн-осень 2023» (Москва, 2023), II Форуме онкологов Сибири и Дальнего Востока (Барнаул, 2023), V онлайн-марафоне «Онлайн-весна 2024» (Москва, 2024), научно-практической конференции и мастер-классе «Торако-абдоминальная онкология: опухоли желудка» МРНЦ им. А.Ф. Цыба ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (Москва, 2024), VI международном онлайн-марафоне «Онлайн-весна 2025» (Москва, 2025), XIII съезде онкологов России (Уфа, 2025).

Публикация результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 43 научных работы, в том числе 16 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации. Получено 5 патентов Российской Федерации на изобретение.

Внедрение результатов исследования

Основные положения и результаты диссертационного исследования внедрены в клиническую практику отделения абдоминальной онкологии НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук и используются при выборе тактики комбинированного лечения больных раком желудка.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, а именно п. 2 «Исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.)», п. 5 «Внедрение в клиническую практику достижений фармакологии в области создания

и использования цитостатиков, гормонов, биологически активных препаратов», п. 10 «Оценка эффективности противоопухолевого лечения на основе анализа отдаленных результатов» и паспорту научной специальности 3.3.3. Патологическая физиология, а именно п.1 «Исследование особенностей этиологических факторов, вызывающих развитие повреждения, и характера их воздействия на уровне клеток, органов и систем организма», п.6 «Изучение механизмов, лежащих в основе различных исходов и осложнений болезни; анализ причин и механизмов развития неполного выздоровления и формирования хронического течения болезни», п. 11 «Разработка новых путей этиотропной и патогенетической терапии с учетом взаимодействия лечебных мероприятий с защитноприспособительными реакциями организма».

Личный вклад автора

Автором проведена разработка дизайна исследования, анализ современной литературы по теме диссертации, определены цели и задачи. Автор проводил набор пациентов для участия в исследовании, организацию клинической работы - определял тактику лечения пациентов, их рандомизацию на подгруппы, оценивал отдалённые и непосредственные результаты лечения. Автором самостоятельно выполнен статистический анализ данных, интерпретация полученных результатов, подготовлены научные публикации по материалам исследования.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 245 страницах машинописного текста, состоит из введения, глав, заключения, выводов, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 44 таблицами и 34 рисунками. Список литературы содержит 306 источников, из них 65 отечественных и 241 зарубежных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании проанализированы результаты лечения 151 пациента с морфологически подтверждённой аденокарциномой желудка, со стадией опухолевого процесса $cT>1N_{\text{любое}}M0$ или $cT_{\text{любое}}N+M0$, получавшие стационарное лечение в отделении абдоминальной онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ (г. Томск) с 2021 по 2024 гг., ранее не подвергавшиеся какой-либо терапии. По результатам предварительного обследования, при распределении на сравниваемые группы 15 пациентов были исключены из исследования. В ходе исследования было сформировано четыре группы пациентов.

1 группа (основная группа) – 35 пациентов с РЖ, у которых по данным ИГХ выявлена Her2neu отрицательная, PDL1 отрицательная опухоль, проведено 8 циклов тотальной предоперационной полихимиотерапии (ПХТ) по схеме FLOT. Перерыв между курсами составлял 2 недели, через 4 недели после завершения лекарственной терапии проводилась радикальная операция;

2 группа (основная группа) – 30 пациентов с РЖ, у которых по результатам ИГХ выявлена Her2neu 3+ или PDL1 положительная опухоль, проведено 8 курсов тотальной предоперационной полихимиотерапии по схеме FLOT. Перерыв между курсами составлял 2 недели. Кроме того, в этой группе, с учетом молекулярно-генетических особенностей опухоли, к курсам полихимиотерапии добавлялась таргетная терапия трастузумабом при Her2neu положительных опухолях или иммунотерапия препаратом пембролизумабом (при PDL1-позитивных опухолях (CPS ≥ 10)). Через 4 недели после завершения противоопухолевой лекарственной терапии проводилась радикальная операция.

3 группа (группа сравнения) – 32 пациента с РЖ, у которых по данным ИГХ выявлена Her2neu отрицательная, PDL1 отрицательная опухоль, проведено 4 курса предоперационной полихимиотерапии по схеме FLOT. Через 4 недели после завершения 4-го курса предоперационной (ПХТ) выполнялось радикальное хирургическое вмешательство. При неосложненном течении раннего послеоперационного периода, через 4-8 недель после операции проводилось 4 курса полихимиотерапии по схеме FLOT, вне зависимости от степени лекарственного патоморфоза первичной опухоли, выраженности объективного ответа первичной опухоли и полученной патоморфологической стадии заболевания. Перерыв между курсами полихимиотерапии по стандартной схеме FLOT составлял 2 недели.

4 группа (контрольная) – 49 пациентов, которым выполнялась радикальная операция в стандартном объеме без дополнительного лечения.

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Критерии включения в исследование:

1. Морфологически доказанная аденокарцинома желудка со стадией опухолевого процесса $cT>1N_{\text{любое}}M0$ или $cT_{\text{любое}}N+M0$ (по классификации TNM Международного противоракового союза 1980 года – пересмотр 2017 года).
2. Больные, ранее не получавшие специального лечения по поводу рака желудка.
3. Общее удовлетворительное состояние больного (статус Карновского более 60 %, ECOG=0-1).
4. Согласие больного на комбинированное лечение.
5. Отсутствие синхронных или метасинхронных злокачественных новообразований, за исключением базальноклеточного рака кожи или рака шейки матки I стадии в анамнезе, по поводу которых завершено радикальное лечение.
6. Удовлетворительные гематологические показатели, выполненные за 3 дня до проведения лекарственной терапии: в общем анализе крови – уровень гемоглобина ≥ 90 г/л; абсолютное число нейтрофилов $\geq 1,5 \times 10^9$ /л; тромбоцитов $\geq 150 \times 10^9$ /л; в биохимическом анализе крови – билирубин общий $<1,5$ -кратного увеличения от верхней границы нормы (ВГН); СКФ <30 мл/мин; трансаминазы (АЛТ и АСТ) $<2,5$ -кратного увеличения от ВГН.

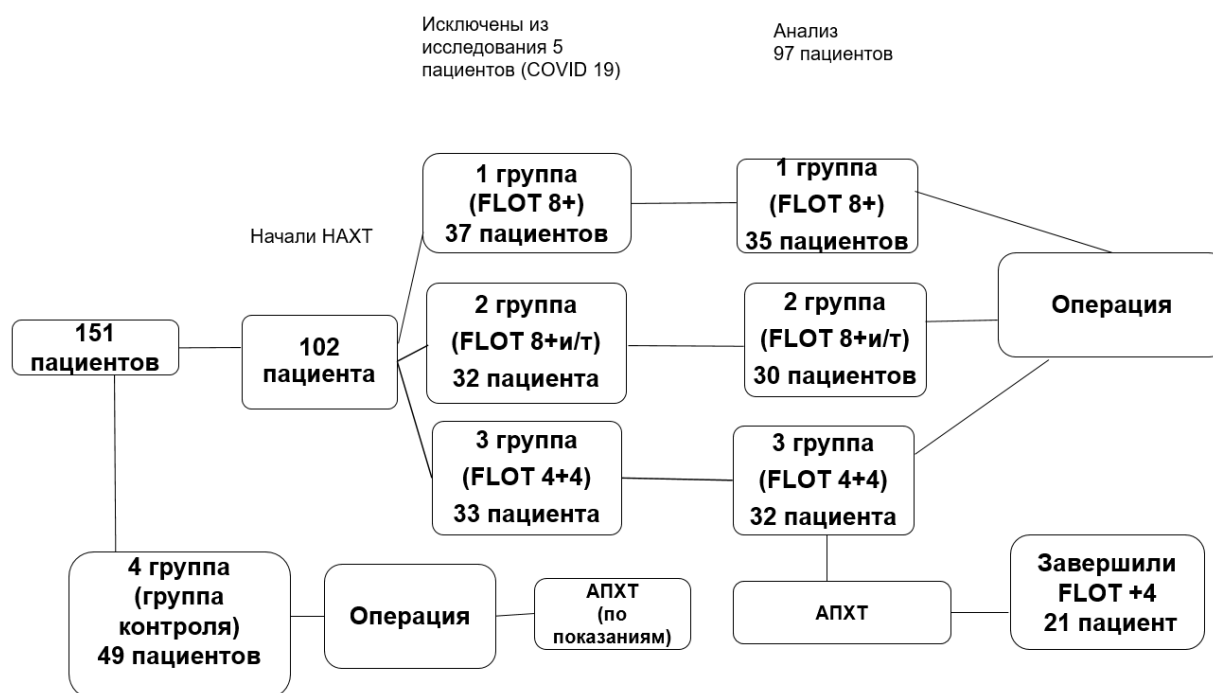


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Критерии невключения больных в исследование:

1. Наличие заболеваний или состояния, определяющие функциональную неоперабельность пациента (общее тяжёлое состояние ECOG>2, обострение сопутствующей патологии).
2. Кардиоэзофагеальный рак (Зиверт I, II).
3. Ранее проводимая терапия по поводу онкологического заболевания.
4. Активный вирусный гепатит С, В, ВИЧ-инфекция.
5. Осложнённое течение первичной опухоли (перфорация, кровотечение), требующее срочного хирургического вмешательства.
6. Гиперчувствительность к используемым противоопухолевым препаратам.

Критерии исключения из исследования:

1. Неприемлемая токсичность лекарственной терапии ($\geq$ IV ст.).
2. Осложнения хирургического этапа лечения $\geq$ IVa ст. по Clavien-Dindo у пациентов 3 группы.

При сравнительном анализе диагностических данных, полученных на этапе предоперационного обследования, установлено, что среди больных РЖ, включенных в исследование, преобладали мужчины, которые составили 58,4 % пациентов (Me (Q1-Q3)). У большинства больных был диагностирован рак тела желудка – в 79 (51,4 %) случаях, далее по частоте поражения следовало субтотальное поражение желудка – в 54 (36,9 %) случаях, реже всего встречался рак пилороантрального отдела желудка – в 12 (8,2 %) наблюдениях. Различия между группами статистически не значимые ($p > 0,05$). На дооперационном этапе пациентам трёх основных групп выставлена клиническая стадия заболевания. По данному параметру сравниваемые группы были сопоставимы (таблицы 1, 2, 3).

Таблица 1 – Распределение больных в сравниваемых по критерию сТ, абс.ч. (% от количества больных)

Критерий сТ	Группы больных, получавших НАХТ		
	1 группа (n = 35)	2 группа (n = 30)	3 группа (n = 32)
T2	3 (8,7 %)	2 (6,6 %)	3 (9,3 %)
T3	20 (57,1 %)	16 (53,3 %)	17 (53,1 %)
T4	12 (34,2 %)	12 (40,1 %)	12 (37,6 %)
Примечание - Chi-Square = 0,35; p = 0,98.			

Таблица 2 – Распределение больных в сравниваемых по критерию сN, абс.ч. (% от количества больных)

Критерий сN	Группы больных, получавших НАХТ		
	1 группа (n = 35)	2 группа (n = 30)	3 группа (n = 32)
N0	9 (25,7 %)	5 (16,7 %)	7 (21,9 %)
N+	26 (74,3 %)	25 (83,3 %)	25 (78,1 %)
Примечание - Chi-Square=0,78; p=0,677.			

Таблица 3 – Распределение больных в сравниваемых по критерию сTN, абс.ч. (% от количества больных)

Клиническое стадирование сTN	Группы больных, получавших НАХТ		
	1 группа (n = 35)	2 группа (n = 30)	3 группа (n = 32)
cT2N0	2 (5,7 %)	2 (6,6 %)	3 (9,4 %)
cT2N+	1 (2,8 %)	-	-
cT3N0	7 (20 %)	3 (10,0 %)	4 (12,5 %)
cT3N+	13 (37,1 %)	13 (43,3 %)	13 (40,6 %)
cT4N+	12 (34,4 %)	12 (40,1 %)	12 (37,5 %)
Примечание - Chi-Square = 3,64; p = 0,88.			

Методы исследования

Инструментальные методы обследования. Общеклинические лабораторные анализы, видеогастродуоденоскопия с биопсией для верификации диагноза, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, почек и шейных, над-/подключичных, аксиллярных, забрюшинных лимфоузлов, щитовидной железы; для женщин – УЗИ органов малого таза, компьютерная томография органов брюшной полости и грудной клетки с контрастным усилением, диагностическая лапароскопия.

Морфологические методы. Для патоморфологического анализа использовались образцы опухолевой ткани, взятые во время биопсии до начала лечения и опухоли, полученные в ходе оперативного лечения рака желудка, заключенные в парафиновые блоки. Материал фиксировался в 10 % растворе

нейтрального формалина. Обработка образцов и изготовление гистологических препаратов выполнялись по общепринятому протоколу. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, после чего исследовали с использованием световой микроскопии. Раздел включал определение гистотипа, степени злокачественности опухоли, при проведении НАХТ – степени лечебного патоморфоза опухоли по Mandart А. М. Гистологический тип рака устанавливался согласно классификации ВОЗ, иммуногистохимическое исследование биопсийного материала включало определение экспрессии HER2neu, экспрессии PD-L1, оценивался уровень CPS. Иммуногистохимическое исследование проводили с помощью иммуноштейнера Ventana BenchMark Ultra (Roche, США) с использованием адаптированного протокола для антитела Dako 22C3 pharmDx (Agilent Technologies, Carpinteria, США) на срезах тканей желудка, полученных при биопсии, до начала комбинированного лечения. Экспрессия PD-L1 оценивалась как в опухолевых, так и в иммунных клетках. Комбинированный положительный балл (CPS) рассчитывался путем деления количества окрашенных PD-L1 клеток (опухолевых и иммунных) на общее количество жизнеспособных опухолевых клеток и умножения полученного значения на 100. Негативная экспрессия PD-L1 определялась как CPS <1, а высокая экспрессия PD-L1 – как CPS ≥ 10.

Методика проведения оперативного вмешательства. Выбор объема радикальной операции зависел от локализации опухоли в желудке, макроскопического типа роста и степени распространенности опухолевого процесса. При локализации опухоли в нижней трети желудка, преимущественно экзофитных формах роста выполнялась дистальная субтотальная резекция желудка в модификации по Ру. При тотальном опухолевом поражении желудка, локализации экзофитных опухолей в средней трети желудка и инфильтративных опухолях любого из отделов, выполнялась гастрэктомия. Используемые методики выполнения субтотальных резекций желудка и гастрэктомий соответствовали общепринятым типовым онкологическим операциям на желудке с удалением регионарных лимфатических коллекторов. Выбор операционного доступа (видеоэндоскопический или лапаротомный) определялся оперирующим хирургом. Во всех случаях пациентам выполнялась стандартная перигастральная лимфодиссекция в объеме D2, принципиальная спленэктомия не выполнялась. Всем пациентам выполнено оперативное вмешательство в объеме R0.

Молекулярно-генетические исследования. В соответствии с целью и задачами исследования, для прогнозирования течения заболевания, а также для определения предсказания риска прогрессирования, у пациентов в первой и второй основных группах была исследована экспрессия компонентов АКТ/m-TOR сигнального пути, киназы АМРК, а также содержание белков, ассоциированных с аутофагией в ткани рака желудка до и после проведенной лекарственной терапии. Материалом исследования явилась нормальная и опухолевая ткань, полученная при проведении видеоэзофагогастроскопии у пациентов до начала комбинированного лечения и после оперативного вмешательства, полученный материал после забора

замораживался и хранился при $t -80^{\circ}\text{C}$. РНК выделяли с помощью набора RNeasy mini Kit, содержащего ДНК-азу I (Qiagen, Germany).

Для оценки количества выделенной РНК на спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, USA) оценивали концентрацию и чистоту выделенной РНК. Концентрация РНК составила от 80 до 250 нг/мкл, $A_{260}/A_{280} = 1.95-2.05$; $A_{260}/A_{230} = 1.90-2.31$. Целостность РНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе TapeStation (Agilent Technologies, USA) и набора R6K ScreenTape (Agilent Technologies, USA). RIN составил 5,6-7,8. Уровень экспрессии генов оценивали при помощи количественной обратной-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) с использованием красителя SYBR Green на амплификаторе DT-prime (ДНК технология, Россия). Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора ОТ m-MuLV-RH (БиоЛабмикс, Россия) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией к набору. ПЦР ставили в трех репликах в объеме 25 мкл, содержащем 12,5 мкл БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (БиоЛабмикс, Россия), 300 нМ прямого и обратного праймеров и 50 нг кДНК: CAIX: F 5'-GTTGCTGTCTCGCTTGGA-3', R 5'-CAGGGTGTCTCAGAGAGGGTGT-3'; HIF-1 α : F 5'-CAAGAACCTACTGCTAATGCCA-3', R 5'-TTTGGTGAGGCTGTCCGA-3'; EPAS1: F 5'-TGGAGTATGAAGAGCAAGCCT-3', R 5'-GGGAACCTGCTCTTGCTGT-3'; NFkB1: F 5'-CGTGTAACCAAAGCCCTAAA-3', R 5'-AACCAAGAAAGGAAGCCAAGT-3'; RELA: F 5'-GGAGCACAGATACCACCAAGA-3', R 5'-GGGTTGTTGTTGGTCTGGAT-3'; VEGFA: F 5'-AGGGCAGAATCATCACGA-3', R 5'-TCTTGCTCTATCTTTCTTTGGTCT-3'; KDR: F 5'-AACACAGCAGGAATCAGTCA-3', R 5'-GTGGTGTCTGTGTCATCGGA-3'; 4-BP1: F 5'-CAGCCCTTTCTCCCTCACT-3', R 5'-TTCCCAAGCACATCAACCT-3'; AKT1: F 5'-CGAGGACGCCAAGGAGA-3', R 5'-GTCATCTTGGTCAGGTGGTGT-3'; C-RAF: F 5'-TGGTGTGTCCTGCTCCCT-3', R 5'-ACTGCCTGCTACCTTACTTCCT-3'; GSK3 β : F 5'-AGACAAGGACGGCAGCAA-3', R 5'-TGGAGTAGAAGAAATAACGCAAT-3'; 70S kinase alpha: F 5'-CAGCACAGCAAATCCTCAGA-3', R 5'-ACACATCTCCCTCTCCACCTT-3'; m-TOR: F 5'-CCAAAGGCAACAAGCGAT-3', R 5'-TTCACCAAACCGTCTCCAA-3'; PDK1: F 5'-TCACCAGGACAGCCAATACA-3', R 5'-CTCCTCGGTCACTCATCTTCA-3'; VHL: F 5'-GGCAGGCGAATCTCTTGA-3', R 5'-CTATTCSTTTACTCAGCACCATT-3'; PD-L2: F 5'-GTTCCACATACCTCAAGTCCAA-3', R 5'-ATAGCACTGTTCACTTCCCTCTT-3'; PD-L1: F 5'-AGGGAGAATGATGGATGTGAA-3', R 5'-ATCATTCACAACCACACTCACAT-3'; PD-1-1: F 5'-CTGGGCGGTGCTACAACCT-3', R 5'-CTTCTGCCCTTCTCTCTGTCA-3'; GAPDH: F 5'-GGAAGTCAGGTGGAGCGA-3', R 5'-GCAACAATATCCACTTTACCAGA-3'.

Двухшаговая программа амплификации включала 1 цикл – 94°C , 10 мин – предварительная денатурация; 40 циклов – 1 шаг 94°C , 10 сек и 2 шаг 20°C – при температуре 60°C . Праймеры были подобраны с использованием программы Vector NTI Advance 11.5 и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>). В

качестве референсного гена использовали ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), и уровень экспрессии каждого целевого гена нормализовали по отношению к экспрессии GAPDH. Количественный анализ экспрессии проводили по $2\Delta\Delta C_t$ по отношению к конститутивно-экспрессируемому гену-рефери фермента GAPDH.

Определение ДНК *Helicobacter pylori*, ВЭБ проводилось методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени согласно инструкции производителя («Вектор Бест», Россия). *Выделение РНК*. РНК выделяли с помощью набора RNeasy mini Kit, содержащего ДНК-азу I (Qiagen, Germany). Для оценки количества выделенной РНК на спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, USA) оценивали концентрацию и чистоту выделенной РНК. Концентрация РНК составила от 80 до 250 нг/мкл, $A_{260}/A_{280} = 1.95-2.05$; $A_{260}/A_{230} = 1.90-2.31$. Целостность РНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе TapeStation (Agilent Technologies, USA) и набора R6K ScreenTape (Agilent Technologies, USA). RIN составил 5,6-7,8. *Получение гомогенатов*. Замороженную ткань (100 мг) измельчали в жидком азоте, затем ресуспендировали в 300 мкл 50 мМ трис-HCl буфера (pH=7,5), содержащего 2 мМ АТФ, 5 мМ хлорида магния, 1 мМ дитиотреитола, 1мМ ЭДТА и 100 мМ хлорида натрия. Гомогенат центрифугировали 60 минут при 10000g и 4°C. *Электрофорез*. Электрофорез проводили по Laemmli в 13% полиакриламидном геле.

Определение содержания белков, ассоциированных с аутофагией методом Вестерн блоттинг. Замороженную ткань (100 мг) гомогенизировали в жидком азоте, затем ресуспендировали в 300 мкл 50 мМ трис-HCl буфера (pH = 7,5), содержащего 2 мМ АТФ, 5 мМ хлорида магния, 1 мМ дитиотреитола, 1мМ ЭДТА и 100 мМ хлорида натрия. Гомогенат центрифугировали 60 минут при 10000g и 4°C. Электрофорез проводили по Laemmli в 13 % полиакриламидном геле. *Вестерн блоттинг*. После электрофореза переносили полипептиды на PVDF-мембрану (Immobilon, Millipore, США). Иммунодетекцию проводили с антителами (LC3B, Beclin-1, ATG12, ATG7, ATG5L, ATG16L, ATG3), включенными в состав набора для изучения аутофагии («Affinity», КНР). Затем мембрану подвергали обработке системой хемилюминесцентной детекции ECL (GE Healthcare, Великобритания). Анализ результатов осуществляли с использованием системы визуализации ChemiDoc™ Touch Imaging System (BioRad, США), а их плотность оценивали с помощью компьютерной программы «ImageLab» (BioRad, США). Стандартизация проводилась относительно β -актина. Результаты выражали в процентах от содержания показателей в неизменной ткани.

Таргетное секвенирование участков генов человека проводили методом парно-концевых прочтений. Оно было выполнено с использованием метода амплификации участков геномной ДНК (ампликонная панель). Была использована таргетная панель, состоящая из 48 генов: В ПАНЕЛЬ ONCONETIX (48 генов) *AKT1*, *ALK*, *APC*, *BRAF*, *CDH1*, *CDKN2A*, *CTNNB1*, *DDR2*, *EGFR*, *EIF1AX*, *ERBB2*, *ERBB4*, *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *FOXL2*, *GNA11*, *GNAQ*, *GNAS*, *H3F3A*, *HIST1H3B*, *HIST1H3C*, *HNF1A*, *HRAS*,

IDH1, IDH2, KDR, KIT, KRAS, MAP2K1, MET, MLH1, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PTEN, RET, ROS1, SF3B1, SMAD4, SMARCB1, SMO, SRC, STK11, TERT, TP53, TSC1, VHL.

ДНК из парафиновых блоков была выделена с использованием набора ReliaPrep™ FFPE gDNA Miniprep System (Promega). Для сравнительного анализа и поиска известных мутаций были использованы базы данных COSMIC, ClinVar, NCBI. Секвенирование проведено на платформе Novoseq.

Методы оценки непосредственной и отдаленной эффективности комбинированного лечения. Непосредственные результаты предоперационной терапии оценивались по системе RECIST 1.1. (Response Evaluation Criteria in Solid Tumours) на основании данных спиральной компьютерной томографии органов грудной клетки и брюшной полости (Гомболевский В.А. с соавт., 2018). Характер осложнений, связанных с неоадьювантной полихимиотерапией, был проанализирован с помощью стандартных критериев Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), Version 5.0 November 27, 2017. Последние оценивались по шкале Clavien-Dindo (Dindo D. et al., 2004). Для изучения отдаленных результатов комбинированного лечения были прослежены исходы лечения больных, согласно клиническим рекомендациям. Сравнительная оценка эффективности комбинированного лечения РЖ в исследуемых группах осуществлялась на основании анализа срока и частоты возникновения рецидива. Оценка проводилась по окончательному результату, по следующим критериям: жив, умер, жив с рецидивами и/или отдаленными метастазами.

Статистическая обработка результатов

Для анализа данных применялись программные пакеты IBM SPSS Statistics 24.0 и GraphPad Prism 10.0. Для сравнения групп при использовании непараметрических методов статистического анализа применялся критерий χ^2 на непрерывность или двухсторонний точный критерий Фишера в случае малых выборок при таблицах сопряжения 2x2. Различия считались статистически значимыми (достоверными) при $p < 0,05$. Показатели выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости рассчитывались по методу Kaplan-Meier, различия оценивались log-rank тестом. Далее для выявления прогностически значимых факторов использовался однофакторный и многофакторный регрессионный анализ пропорциональных рисков Кокса. Для определения пороговых значений параметров применялся ROC-анализ. Регрессионный анализ (однофакторный и многофакторный) использовался для изучения влияния независимых переменных на зависимую. Для оценки влияния факторов на выживаемость применялся регрессионный анализ Кокса. Выживаемость оценивалась с использованием таблиц дожития, кривых Каплана-Мейера и критерия log-rank. Все статистические тесты были двухсторонними, а различия считались значимыми при уровне $p < 0,05$. Математическая модель для прогнозирования исхода заболевания базировалась на наиболее значимых параметрах и представляла собой уравнение логистической регрессии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нежелательные явления при проведении лекарственной терапии

Наиболее частым нежелательным явлением стала гематологическая токсичность. В первой основной группе нейтропения I-II степени развилась у 14 (40 %) пациентов, во второй основной группе – у 12 (41,4 %), в третьей основной группе, данный вид токсичных реакций наблюдался значительно реже – у 5 (15,6 %) больных; нейтропения III-IV степени была зарегистрирована у 1 (2,8 %) больного в первой и у 1 (3,4 %) у больного во второй основных группах. На фоне проведения полихимиотерапии тромбоцитопения I-II степени суммарно во всех основных группах наблюдалась в 10 (10,43 %) случаях: в I группе – в 4 (11,4 %), во II группе – в 4 (13,7 %) и в III группе – в 2 (6,2 %) случаях соответственно. Анемия I и II степени до начала полихимиотерапии диагностировалась с одинаковой частотой у пациентов основных групп – в 19 (54,3 %), 14 (46,6 %) и 16 (50 %) случаях соответственно, учитывая локализацию первичной опухоли в желудке. Во всех случаях нежелательные гематологические явления, наблюдавшиеся при проведении предоперационной лекарственной противоопухолевой терапии, купировались путем назначения препаратов, направленных на стимуляцию соответствующих ростков кроветворения. Следующим по частоте встречаемости нежелательным явлением на фоне проведения предоперационной терапии была периферическая нейропатия. Она отмечалась у пациентов всех основных групп, вне зависимости от количества курсов. В первой группе нейропатия отмечена у 18 (51,4 %), во второй – у 12 (41,3 %), в третьей – у 17 (53,1 %) больных РЖ. Гепатологическая токсичность I-II степени в первой основной группе развилась у 10 (28,5 %), во второй основной группе – у 9 (30 %) и в третьей основной группе – у 6 (18,7%) пациентов соответственно. Гепатологическая токсичность III-IV степени не отмечалась. Необходимо отметить, что добавление к схеме FLOT таргетного препарата и иммунотерапии не привело к значительному увеличению частоты нежелательных явлений лекарственного лечения у больных, включенных во вторую основную группу исследования. Осложнения в процессе проводимой предоперационной терапии носили кратковременный характер. Во всех случаях токсические реакции, возникшие в процессе проведения лечения, не требовали его отмены и увеличения перерыва между курсами, а также не приводили к редукции первоначальной дозы цитостатиков и купировались назначением стандартной консервативной терапии. Летальность от осложнений химиотерапии во всех группах не отмечена.

Оценка эффективности предоперационной лекарственной терапии

При инструментальной оценке первичной опухоли, после завершения предоперационного этапа комбинированного лечения, выполненной непосредственно перед оперативным вмешательством, установлено, что в большинстве случаев полученный эффект соответствовал частичной регрессии (ЧР) (таблица 4). При этом, у пациентов первой и второй основных групп эффект в виде ЧР на проведенную

предоперационную терапию наблюдался значимо чаще – в 22 (62,8 %) и в 20 (68,9 %) случаях соответственно, чем у пациентов третьей основной группы, получавших периоперационную химиотерапию по схеме FLOT 4 + 4, частичная регрессия опухоли отмечена в 9 (28,1 %) наблюдениях ($p = 0,03$). В этой группе значимо чаще наблюдалась стабилизация опухолевого процесса – в 23 (71,9 %) случаях ($p = 0,03$), в I и II группах стабилизация опухоли была зафиксирована почти 2 раза реже – в 12 (34,3 %) и 10 (33,4 %) наблюдениях соответственно. Прогрессирование опухолевого процесса отмечено у 1 (2,8 %) пациента первой основной группы в виде метастатического поражения брюшины и появления асцита. Данному больному проведена смена режима полихимиотерапии.

Таблица 4 – Оценка эффективности предоперационной полихимиотерапии на предоперационном этапе в исследуемых группах

Эффективность ПХТ	Количество больных		
	1 группа (n = 35)	2 группа (n = 30)	3 группа (n = 32)
Частичный ответ	22 (62,9 %)	20 (66,6 %)	9 (28,1 %)
Стабилизация	12 (34,3 %)	10 (33,4 %)	23 (71,9 %)
Полный ответ	-	-	-
Прогрессирование	1 (2,8 %)	-	-
Примечание - Chi-Square = 13,93, $p = 0,03$			

Хирургический этап комбинированного лечения, послеоперационные осложнения, послеоперационная летальность

Хирургическое лечение больных, включенных в исследование, осуществлялось в соответствии с принципами абластики с принципиальным выполнением перигастральной лимфодиссекции в объеме D2 во всех случаях, независимо от распространенности и локализации первичной опухоли. Методика выполнения операций с ЛД D2 не отличалась от описанной в литературе. Во всех случаях оперативное вмешательство осуществлено в радикальном объеме (R0). Лапароскопическим доступом удалось выполнить оперативное вмешательство у 12 (8,3 %) пациентов. В большинстве случаев во всех группах выполнялась гастрэктомия: 19 пациентов в первой основной группе (55,8 %), 14 (46,7 %) во второй основной группе, 19 (59,4 %) в третьей основной группе, 27 (55,1 %) в группе контроля, далее по частоте встречаемости шла субтотальная дистальная резекция желудка- 13 (38,2 %), 13 (43,3 %), 12 (37,5 %) соответственно в основных группах и 16 (32,6 %) в группе контроля (таблица 5). В исследовании выполнено 12 комбинированных операций, что в среднем по всем группам составило 8,2 %, статистической разницы в группах не отмечено.

Таблица 5 – Распределение больных в сравниваемых группах по объёму выполненных оперативных вмешательств, абс.ч. (% от количества больных)

Объём оперативного вмешательства	Группы больных			
	1 группа (n = 35)	2 группа (n = 30)	3 группа (n = 32)	4 группа (n = 49)
Субтотальная дистальная резекция желудка	13 (38,2 %)	13 (43,3 %)	12 (37,5 %)	16 (32,6 %)
Гастрэктомия	19 (55,8 %)	14 (46,7 %)	19 (59,4 %)	27 (55,1 %)
в т.ч. выполненные лапароскопически	5 (14,7 %)	4 (13,3 %)	3 (9,4 %)	0
Комбинированная гастрэктомия	2 (5,9 %)	3 (10,0 %)	1 (3,1 %)	6 (12,3 %)
Примечание - Chi-Square = 9,82, p = 0,365.				

При оценке особенностей послеоперационного периода обратило на себя внимание, что количество отделяемого по дренажам было больше во 2 основной группе – 450 (425-275) мл, против 220 (215-225) мл, 250 (240-260) мл и 210 (195-228) – в 1, 3 и 4 группах соответственно, что вероятнее всего, связано с проведением предоперационной иммунотерапии у данной группы пациентов. В свою очередь, это обстоятельство потребовало более длительного нахождения дренажных трубок в брюшной полости – до 3-5 суток послеоперационного периода против 1-3 суток в I, III и IV группах. При этом указанные особенности существенно не повлияли на продолжительность послеоперационного госпитального периода.

Клинически значимые послеоперационные осложнения – IIIb степени и более по классификации Clavien-Dindo были зафиксированы у 10 больных, из них в первой основной группе осложнения возникли у 3 (8,8 %) пациентов, во второй основной группе – у 1 (3, %), в третьей основной группе – у 2 (6,3 %), в контрольной группе – у 4 (8,1 %) пациентов. Таким образом, в сравниваемых группах не наблюдалось статистически значимых различий по частоте осложнений в послеоперационном периоде ($p > 0,05$), это позволяет утверждать, что проведенная тотальная предоперационная лекарственная терапия не оказывает негативного влияния на течение послеоперационного периода и не увеличивает частоту послеоперационных осложнений. Уровень послеоперационной летальности в сравниваемых группах составил: в 1 основной группе – 0 %; во 2 группе – 3,3 %; в 3 группе – 0 %; в 4 (контрольной) группе – 4,0 % соответственно.

Оценка лекарственного патоморфоза после проведённого комбинированного лечения

При оценке лечебного патоморфоза в трех исследуемых группах больных РЖ, получавших предоперационную химиотерапию, полный патоморфологический ответ (TRG1) был зарегистрирован у 17 пациентов (17,9 %), TRG2 – у 20 (21,0 %), TRG3 – у

24 (27,8 %), TRG4 – у 24 (23,6 %), TRG5 – у 10 (8,3 %) больных соответственно. Полная регрессия опухоли (ypT0N0) значительно чаще встречалась в группах пациентов, которые получили все 8 курсов полихимиотерапии на предоперационном этапе. В первой основной группе TRG1 был зарегистрирован у 5 (14,7 %) пациентов. Во второй основной группе в обеих подгруппах TRG1 наблюдался значительно чаще ($p = 0,056$): у пациентов, получавших комбинацию FLOT8 и иммунотерапию препаратом пембролизумаб, TRG1 отмечен в 10 (45,4 %) случаях и у пациентов, получавших совместно со схемой FLOT 8+ таргетную терапию препаратом трастузумабом – в 2 (25,0 %) случаях. В третьей основной группе не было зарегистрировано ни одного случая полного патоморфологического ответа опухоли на проведенное предоперационное лечение (таблица 6).

Таблица 6 – Оценка степени лечебного патоморфоза по классификации А.М. Mandard в зависимости от способа предоперационной противоопухолевой терапии, абс.ч. (% от количества больных)

Степень патоморфоза	Сравниваемые группы			
	1 группа (n = 35)	2 группа (n=30)		3 группа (n = 32)
		FLOT 8 + таргет (n = 8)	FLOT 8 + ИТ (n = 22)	
TRG 1	5 (14,7 %)*	2 (25,0 %)*	10 (45,4 %)*	-
TRG2	5 (14,7 %)	2 (25,0 %)	5 (22,7 %)	5 (15,6 %)
TRG3	9 (26,5 %)	3 (37,5 %)	4 (18,1 %)	7 (21,9 %)
TRG4	12 (35,3 %)	1 (12,5 %)	2 (9,1 %)	11 (34,4 %)
TRG5	1 (8,8 %)	-	1 (4,7 %)	9 (28,1 %)
Примечания: 1* – различия между сравниваемыми группами статистически значимые ($p < 0,05$); 2 Chi-Square = 35,89; $p = 0,0003$.				

Частота лечебного патоморфоза TRG2 в первой основной группе также составила 14,7 %; во второй основной группе при FLOT + пембролизумаб – 22,7 %, при FLOT + трастузумаб – 25,0 %; в третьей группе – в 15,6 %. Обращает на себя внимание, что отсутствие морфологических признаков регрессии опухоли (ЛП TRG5) при проведении тотальной предоперационной химиотерапии, как по схеме FLOT 8+, так при комбинации FLOT 8+/таргетная терапия/иммунотерапия было отмечено только у 2 больных, по одному наблюдению в каждой из этих групп (таблица 5), тогда как при НАХТ по схеме FLOT 4 + 4 лекарственный патоморфоз TRG5 был зафиксирован у 9 (28,1 %) пациентов.

Молекулярно-генетические показатели и их связь с эффективностью проводимого лечения

В исследовании была изучена экспрессия транскрипционных и ростовых факторов в ткани больных РЖ. Данные показатели изучались до начала лечения

(биопсийный материал, полученный при гастроскопии), а также после завершения всех курсов лекарственной терапии (операционный материал) в трёх основных группах и представлены в таблице 6. Продемонстрированы особенности экспрессии молекулярных маркеров опухоли у больных в зависимости от применяемой схемы лечения. При сравнении экспрессии транскрипционных, ростовых факторов и их рецепторов в ткани опухоли в трех исследуемых группах значимых различий не было выявлено. Во второй основной группе, где применялась схема FLOT8+иммуно/таргетная терапия были отмечены самые высокие показатели экспрессии c-RAF и 70S 6 киназы. У пациентов, получивших ПХТ по схеме FLOT 4+4 были отмечены высокие показатели GSK-3 β , что может свидетельствовать о более агрессивном характере опухоли в этой группе пациентов (таблица 7). Отмечено, что после проведенного лечения у пациентов второй основной группы (получивших схему FLOT8+ИТ/ТТ) происходило увеличение экспрессии *VEGF* в 7,25 и CAIX в 5,1 раза в ткани опухоли желудка по сравнению с первоначальными значениями

Таблица 7 – Экспрессия компонентов АКТ/mTOR сигнального каскада при РЖ в зависимости от схемы лекарственной терапии

Показатель Усл. ЕД.	До лечения			После лечения		
	1 группа (n = 35)	2 группа (n = 30)	3 группа (n = 32)	1 группа (n = 35)	2 группа (n = 30)	3 группа (n = 32)
NF-κBp65	1,08 (0,76; 2,81)	0,76 (0,23; 2,26)	0,52 (0,23; 1,08)	0,63 (0,20; 1,93)	1,93 (0,78; 10,68)	0,76 (0,23; 2,26)
NF-κBp50	1,11 (0,51; 7,41)	0,6 (0,38; 10,26)	0,99 (0,38; 5,10)	1,08 (0,32; 4,46)	1,33 (0,24; 10,34)	0,6 (0,38; 10,26)
HIF-1	0,64 (0,16; 1,02)	2,02 (0,54; 9)	0,71 (0,12; 1,73)	1,01 (0,18; 2,20)	8,12 (0,77; 60,49)	2,02 (0,54; 9)
HIF-2	0,50 (0,20; 1,69)	1,37 (0,09; 4,5)	0,91 (0,09; 1,69)	0,64 (0,09; 2,43)	0,89 (0,4; 6,31)	1,37 (0,09; 4,5)
VEGF	0,98 (0,32; 1,46)	0,32 (0,03; 2,13)#	0,93 (0,27; 1,35)	0,96 (0,30; 3,14)	2,32 (0,4; 10,75)#	0,32 (0,03; 2,13)
CAIX	1,06 (0,88; 6,47)	0,51 (0,13; 1,46)	0,88 (0,13; 2,30)	0,99 (0,48; 7,17)	2,57 (0,56; 7,04) *	0,51 (0,13; 1,46)
VEGFR2	1,21 (0,61; 6,92)	0,78 (0,2; 5,31)	0,73 (0,20; 2,17)	1,09 (0,25; 3,34)	1,7 (0,33; 2,59)	0,78 (0,2; 5,31)
PDK	1,10 (0,99; 2,87)	1,54 (0,35; 6,89)	0,97 (0,24; 1,73)	0,67 (0,24; 4,92)	1,25 (0,06; 9,49)	1,54 (0,35; 6,89)
АКТ	0,30 (0,00; 0,86)	0,99 (0,21; 2,21)	1,54 (0,86; 1,64)	1,96 (1,54; 7,11)	1,95 (1,58; 76,00)	0,99 (0,21; 2,21)
c-RAF	0,61 (0,33; 299,65)*	6,77 (1,27; 29,60)*	0,72 (0,61; 1,41)*	0,72 (0,07; 1,06)	15,07 (6,57; 120,76)	6,77 (1,27; 29,60)
GSK-3β	0,05 (0; 1,27)*	1,95 (0,30; 16,84)*	16,11 (4,72; 32,22)*	0,61 (0,33; 299,65)*	1,12 (0,02; 2,29)	1,95 (0,30; 16,84)
PTEN	2,28 (2,13; 8,28)	2,13 (0,20; 9,78)	1,44 (0,2; 9,78)	2,28 (1,44; 8,28)	7,18 (0,00; 29,82)	2,13 (0,20; 9,78)

До лечения				После лечения		
Показатель Усл. ЕД.	1 группа (n = 35)	2 группа (n = 30)	3 группа (n = 32)	1 группа (n = 35)	2 группа (n = 30)	3 группа (n = 32)
mTOR	0,19 (0,19; 5,7)	0,99 (0,19; 1,62)	0,66 (0,3; 1,28)	0,19 (0,19; 5,7)	4,74 (0,15; 6,83)	0,99 (0,19; 1,62)
4E-BP1	4,56 (0,45; 376,21)	3,1 (0,45; 56,87)	1,24 (0,52; 12,82)	4,56 (0,45; 376,21)	1,41 (0,48; 15,62)*	3,1 (0,45; 56,87)
70s 6 киназа	0,02 (0; 0,54)*	3,92 (0,54; 15,40)*	15,40 (4,06; 43,71)*	0,19 (0,19; 5,7)*	8,02 (0,26; 32,66)	3,92 (0,54; 15,40)
АМРК	0,19 (0,19; 5,7)	1,45 (0,11; 7,95)	0,26 (0,3; 1,28)	0,28 (0,66; 5,70)	11,10 (0,07; 65,38)	1,45 (0,11; 7,95)

Примечания:
1 * - значимость различий, $p < 0,05$; Критерий Крускала-Уоллиса;
2 # - значимость различий по сравнению с показателями до лечения, $p < 0,05$.

Отмечено, что рост экспрессии VHL в ткани опухоли желудка был характерен при PD-L1 положительном злокачественном процессе. Так же в этой группе выявлено снижение экспрессии 4EBP1, c-RAF, PDK1, в 2,5 раза, соответственно, по сравнению с опухолями с отрицательным статусом PD-L1 (рисунок 2). Кроме того, стоит отметить, что значимых изменений в экспрессии PD-1, PD-L1, PD-L2 в ткани РЖ в зависимости от статуса PD-L1 и Her2neu отмечено не было (рисунок 3). Зафиксировано снижение экспрессии 4EBP1 в 2,2 раза в ткани опухоли после проведённой терапии. При сравнении показателей экспрессии транскрипционных и ростовых факторов в зависимости от эффективности противоопухолевой комбинированной терапии значимых различий обнаружено не было. Выявлены изменения экспрессии 4EBP1, mTOR, AMPK в основных группах пациентов в зависимости от клинического ответа опухоли на проводимую терапию.

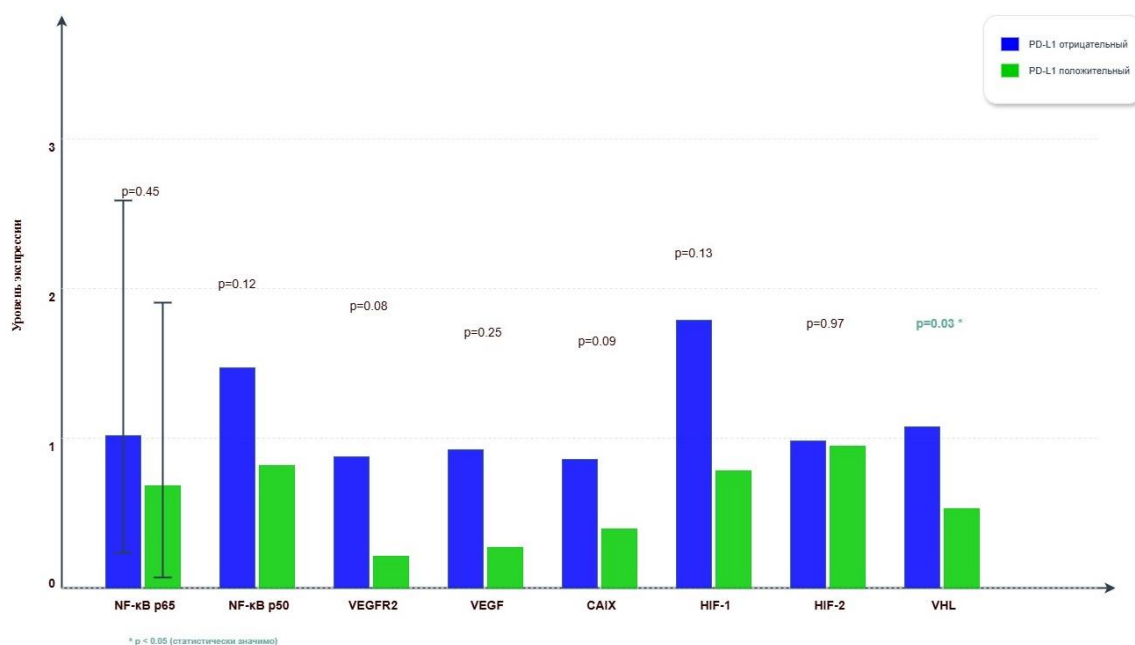


Рисунок 2 – Экспрессия транскрипционных и ростовых факторов в ткани рака желудка в зависимости от статуса PD-L1

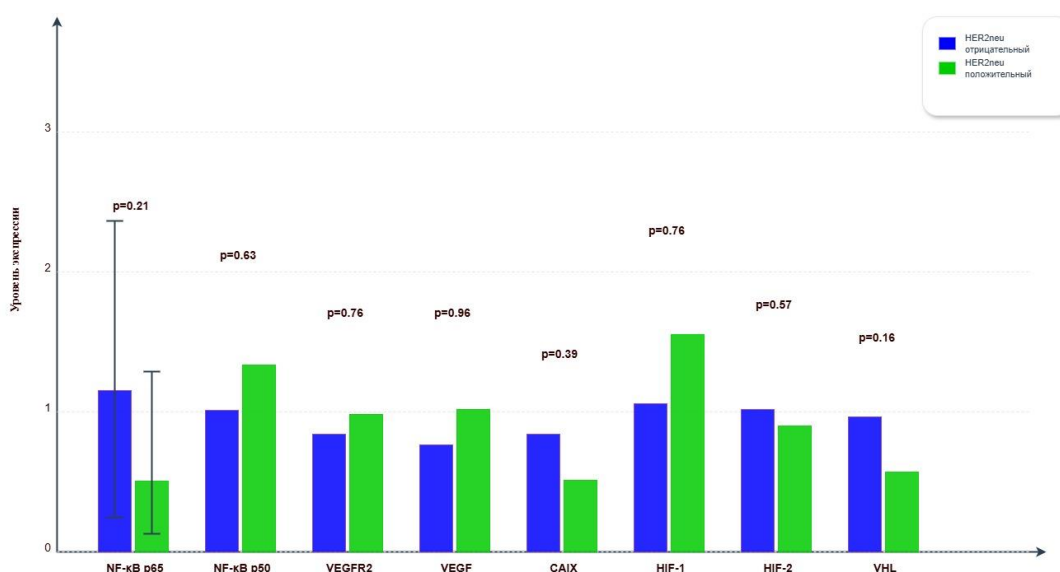


Рисунок 3 – Экспрессия транскрипционных и ростовых факторов в ткани рака желудка в зависимости от статуса Her2neu

В работе изучено содержание белков, ассоциированных с аутофагией, в ткани опухоли желудка в зависимости от эффективности лечения, а также HER2neu PD-L1 статуса. Отмечена ассоциация с содержанием индуктора Beclin-1, выявлено его увеличение в 1,4 раза у больных со стабилизацией опухолевого процесса по сравнению с пациентами, у которых отмечался частичный ответ опухоли на терапию. У пациентов с HER2-позитивным раком желудка отмечено достоверное повышение экспрессии ключевых белков аутофагии по сравнению с HER2-негативными случаями: содержание LC3B увеличилось в 2,8 раза, ATG7 - в 1,3 раза, ATG5 - в 1,2 раза (рисунок 4). Аналогичная закономерность выявлена для PD-L1-позитивных опухолей ($CPS \geq 10$): уровень белка LC3B был повышен в 2,4 раза относительно PD-L1-негативных опухолей ($CPS < 1$) (рисунок 5).

Согласно литературным данным, положительный статус HER2 ассоциирован с активацией аутофагического потока в клеточных линиях рака желудка, экспрессирующих данный рецептор. Полученные нами результаты дополняют эти наблюдения: у пациентов с HER2-позитивными опухолями выявлено достоверное повышение экспрессии ключевых белков аутофагии (LC3B, ATG5, ATG7). В работе Wang X. и соавт. (2019) продемонстрировано, что индукция аутофагии модулирует экспрессию белков, регулирующих программированную клеточную гибель; аналогичные закономерности подтверждены в нашем исследовании. Дополнительно установлена взаимосвязь между позитивной экспрессией PD-L1 ($CPS \geq 10$) и повышением уровня белка LC3B - маркера аутофагосом, что может отражать адаптивный ответ опухоли на иммунный стресс.

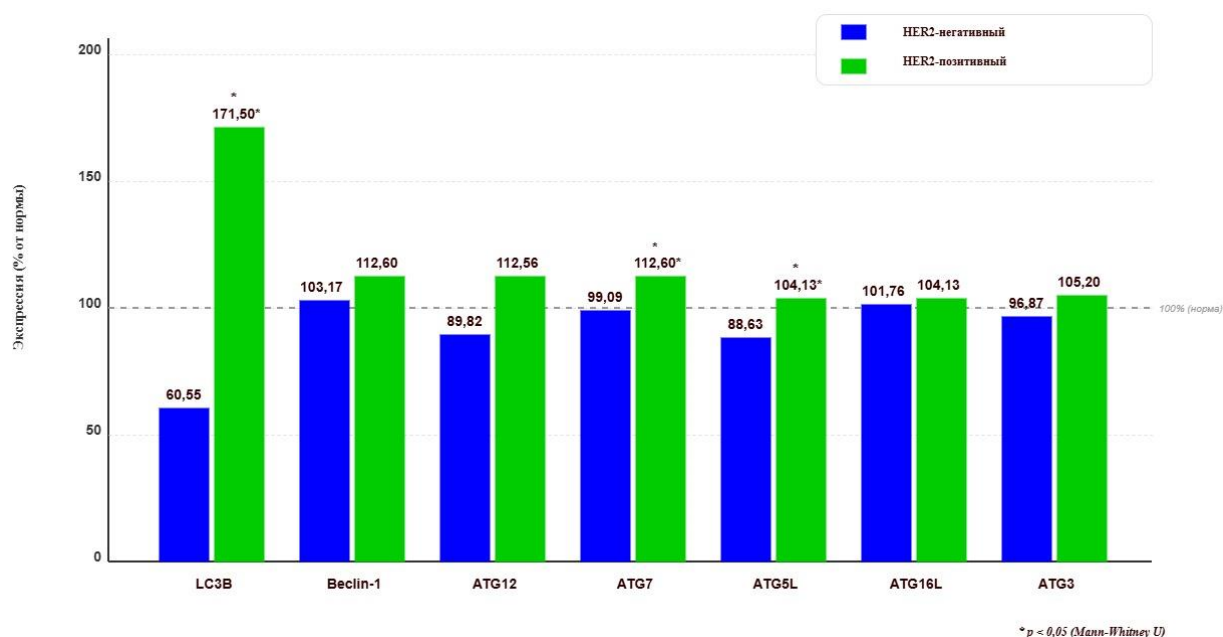


Рисунок 4 – Содержание белков LC3B, Beclin-1, ATG12, ATG7, ATG5L, ATG16L, ATG3 в ткани опухоли желудка в зависимости от HER2 статуса опухоли

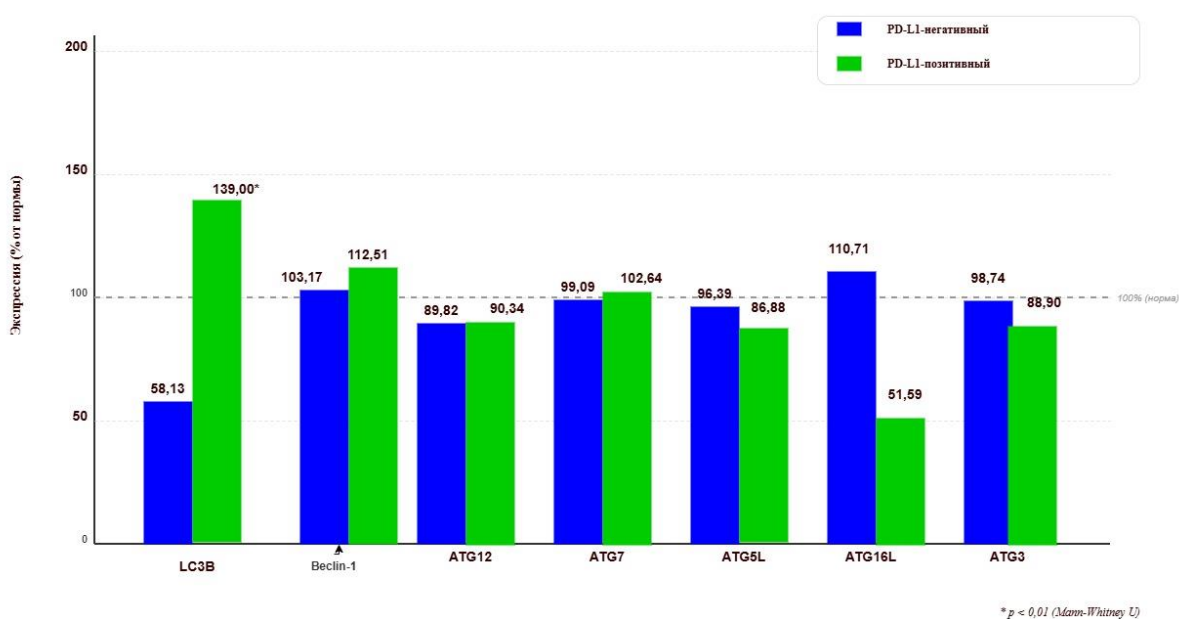


Рисунок 5– Содержание белков LC3B, Beclin-1, ATG12, ATG7, ATG5L, ATG16L, ATG3 в ткани опухоли желудка в зависимости от PD-L1 статуса опухоли

Полученные данные подчёркивают прогностическую и предиктивную значимость аутофагии при раке желудка. Уровень экспрессии ключевых белков аутофагии (LC3B, Beclin-1, ATG5) ассоциирован с характером патологического ответа на неоадьювантную терапию и может служить молекулярным маркером для

стратификации пациентов по риску неэффективности лечения. Эти данные создают предпосылки для двух направлений клинического применения: (1) использования компонентов аутофагии в качестве терапевтических мишеней (например, ингибиторы аутофагии в комбинации с химиотерапией); (2) включения белков аутофагии в прогностические модели для персонализации тактики лечения.

Исследование экспрессии транскрипционных, ростовых факторов, компонентов АКТ/mTOR сигнального пути, белка LC3B в зависимости от инфицирования *Helicobacter pylori* и вируса Эпштейна-Барр

Исследование *Helicobacter pylori* и вируса Эпштейна-Барр было выполнено пациентам трёх основных групп. В результате показано, что у 87 пациентов ДНК *H. pylori* не выявлена, у 10 человек была обнаружена ДНК *H. pylori*. У пяти пациентов зафиксирована ДНК ВЭБ, у остальных пациентов ДНК вируса не обнаружено. Также у четырёх пациентов выявлена сочетанная инфекция ДНК *H. pylori* и ВЭБ. В работе проведена оценка экспрессии транскрипционных факторов и факторов роста в опухолевой ткани желудка в зависимости от наличия ДНК вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ) и *Helicobacter pylori*. Исследование выявило статистически значимое повышение экспрессии карбоангидразы IX (CAIX) у пациентов, у которых в опухолевой ткани была обнаружена ДНК *H. pylori* (рисунок 6). Уровень экспрессии CAIX в группе *H. pylori*-позитивных пациентов был в 7,41 раза выше, чем в группе пациентов без выявления ДНК данного микроорганизма. Это связано прежде всего тем, что *H. pylori* напрямую увеличивает экспрессию CAIX через активацию HIF-1 α (рисунок 7). Уреаза *H. pylori* критически важна для этого процесса. CAIX служит маркером гипоксии и способствует инвазивному росту опухолевых клеток. Комбинированная инфекция (*H. pylori* + EBV) усиливает этот эффект.

В случае совместного обнаружения ДНК *H. pylori* и ВЭБ выявлялись статистически значимые изменения в экспрессии АКТ и mTOR. Наблюдалось их снижение в 6,2 и в 5,38 раз соответственно по сравнению с их значениями в группе пациентов, в опухолевых тканях которых не было обнаружено ДНК *H. pylori* и ВЭБ, либо обнаружена только одна из них (рисунки 8, 9).

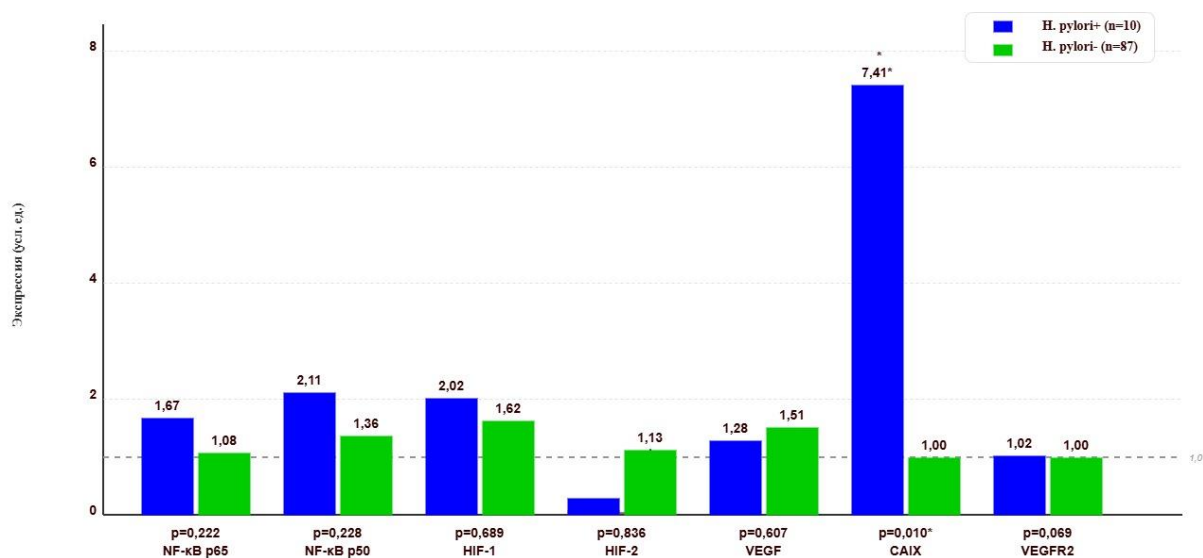


Рисунок 6 – Экспрессия транскрипционных и ростовых факторов в ткани рака желудка в зависимости от присутствия ДНК *Helicobacter pylori*

Примечание: * – значимость различий между группами пациентов, в тканях которых обнаружена ДНК *H. pylori* и в которых она отсутствует, $p < 0,05$.

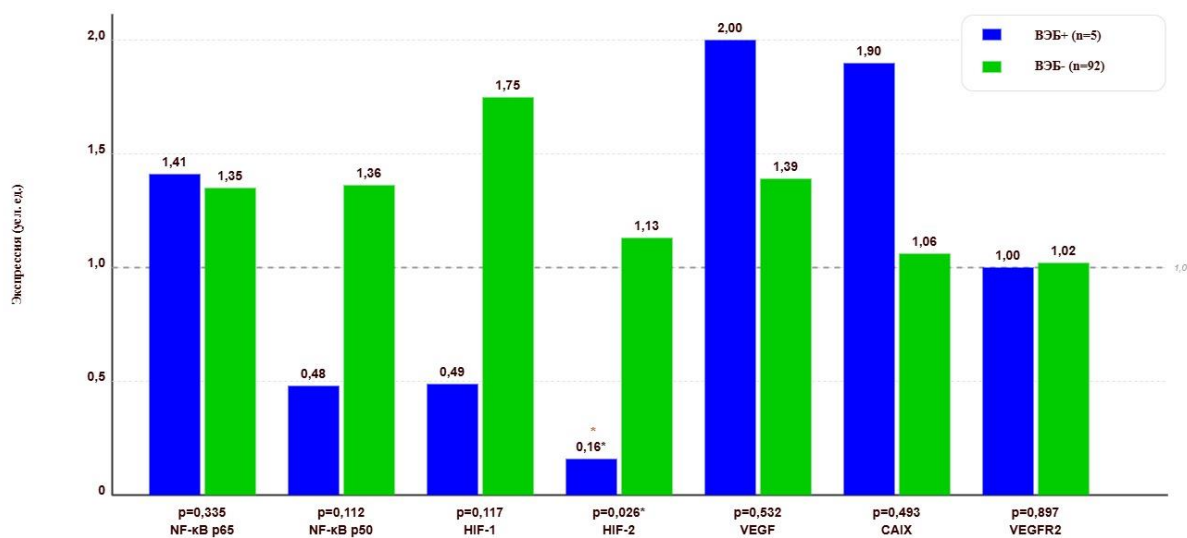


Рисунок 7 – Экспрессия транскрипционных и ростовых факторов в ткани рака желудка в зависимости от присутствия ВЭБ (Me; Q1:Q3)

Примечание: * – значимость различий между группами пациентов, в тканях которых обнаружена ДНК ВЭБ и в которых она отсутствует, $p < 0,05$.

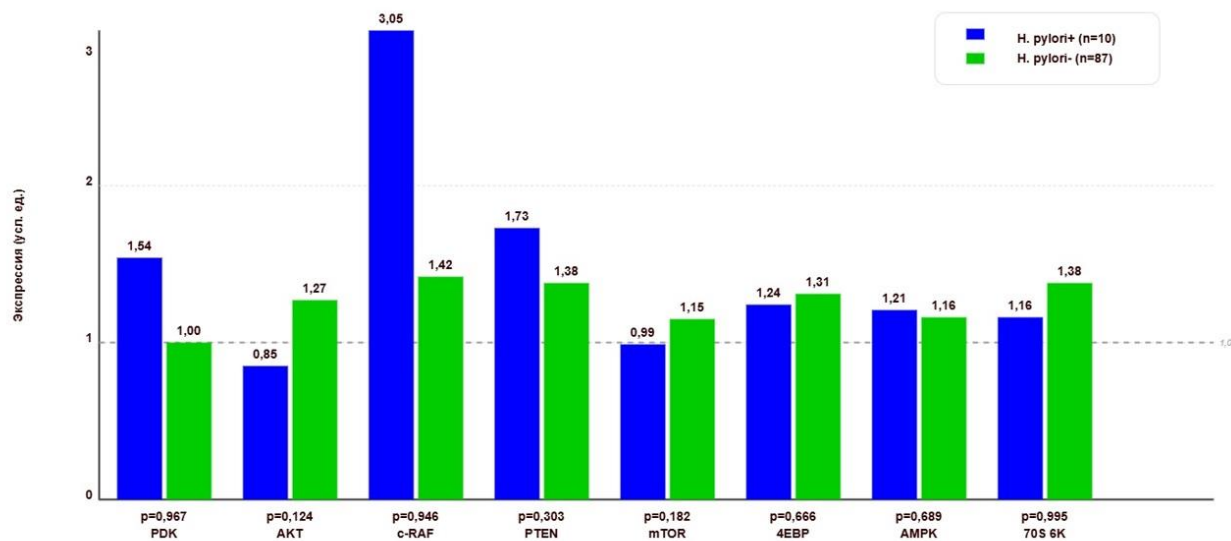


Рисунок 8 – Экспрессия компонентов АКТ/mTOR сигнального каскада в ткани рака желудка в зависимости от присутствия ДНК *Helicobacter pylori*

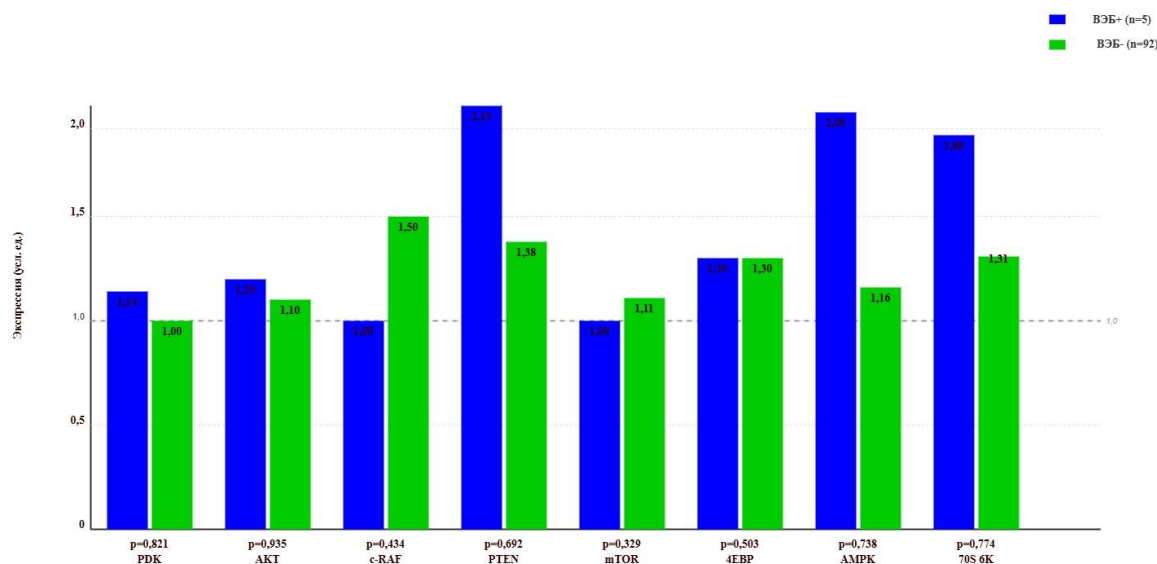


Рисунок 9 – Экспрессия компонентов АКТ/mTOR сигнального каскада в ткани рака желудка в зависимости от присутствия ДНК ВЭБ

Распределение генетических маркеров, их связь с клиничко-морфологическими характеристиками опухоли и эффективностью проводимого лечения

Таргетное секвенирование 48 генов не выявило у 2 (8,7 %) пациентов значимых маркеров, ассоциированных с ответом на терапию, а также генетических

вариантов, имеющих отношение к фенотипу опухоли. В результате исследования у 21 пациента было установлено, что регрессия опухолевого процесса наблюдалась у 14 (66,6 %) пациентов, в том числе у 2 пациентов после планового гистологического исследования отмечен полный патоморфологический ответ опухоли на терапию. У восьми пациентов, у которых отмечалась частичная регрессия опухоли на проводимую терапию было выявлено наличие мутаций, ассоциированных с ответом на терапию и имеющих отношение к фенотипу опухоли. Двойные и тройные мутации отмечены у 2 пациентов. Была выявлена мутация *PIK3CA* (chr3:g.178936091G>A) в 14,3 % случаев, мутация *TP53* – 28,6 %, мутация *PTEN* – 7,1 %, мутация *PI3K* – 7,1 % и мутация *MAPK* – 7,1 %. При стабилизации опухолевого процесса на фоне проводимой терапии у пациентов было выявлено 13 мутаций, из которых двойные мутации выявлены у двух пациентов, тройные мутации также были найдены у двух пациентов (рисунок 10). Мутация *KRAS* (chr12:g.25398284C>T) была зафиксирована в 14,3 % случаев, *PIK3CA* мутация (chr3:g.178952085A>G chr3:g.178936091 G>A) в 28,6 % случаев, 57,1 % пациентов имели мутацию *TP53* 28,6 % - мутацию *PIK3CA*; 14,3 % - мутацию *PTEN*; 14,3 % - мутацию *ERBB*; 14,3 % - мутацию *SMAD4* и 14,3 % - мутацию *CTNNB*. Более того, статистически значимо различался ответ на проводимое лечение в зависимости от наличия следующих генетических вариантов: мутации *KRAS*, связанной с ответом на терапию, и мутаций *ERBB2*, *SMAD4*, *CTNNB*, связанных с фенотипом опухоли ($\chi^2 = 4,20$, $p = 0,04$). При наличии вышеперечисленных мутаций в 100% случаев отмечен клинический ответ в виде стабилизации опухолевого процесса. Также у данной когорты пациентов, в 100 % случаев имелаась одиночная мутация *TP53*, в том случае, когда отмечалась регрессия опухолевого процесса, одиночная мутация встретила в 67 % случаев, на рисунке 10 представлены встретившиеся патологические варианты этого гена.

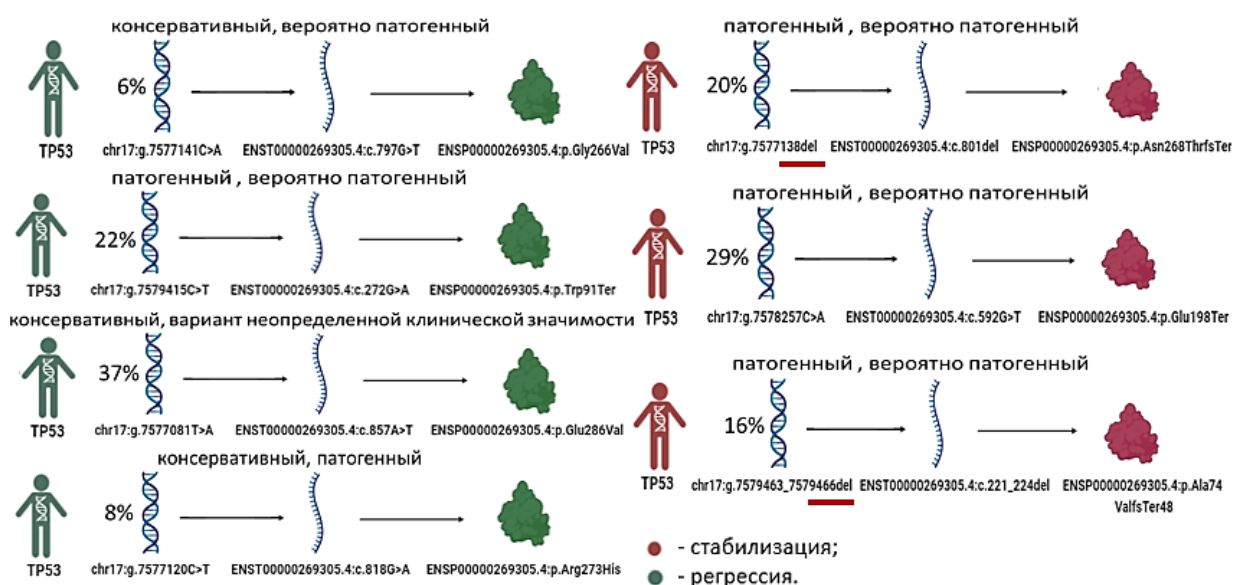


Рисунок 10 – Пациенты с раком желудка, имеющие мутацию гена *TP53*

В нашем исследовании генетические варианты *KRAS* и *ERBB* наблюдались только у PD-L1 (рисунок 11) положительных пациентов с размером опухоли сТ3 – сТ4. Положительный PD-L1 статус был выявлен у 5 из исследуемых пациентов. На рисунке 11 показана взаимосвязь мутации в зависимости от PD-L1 статуса.

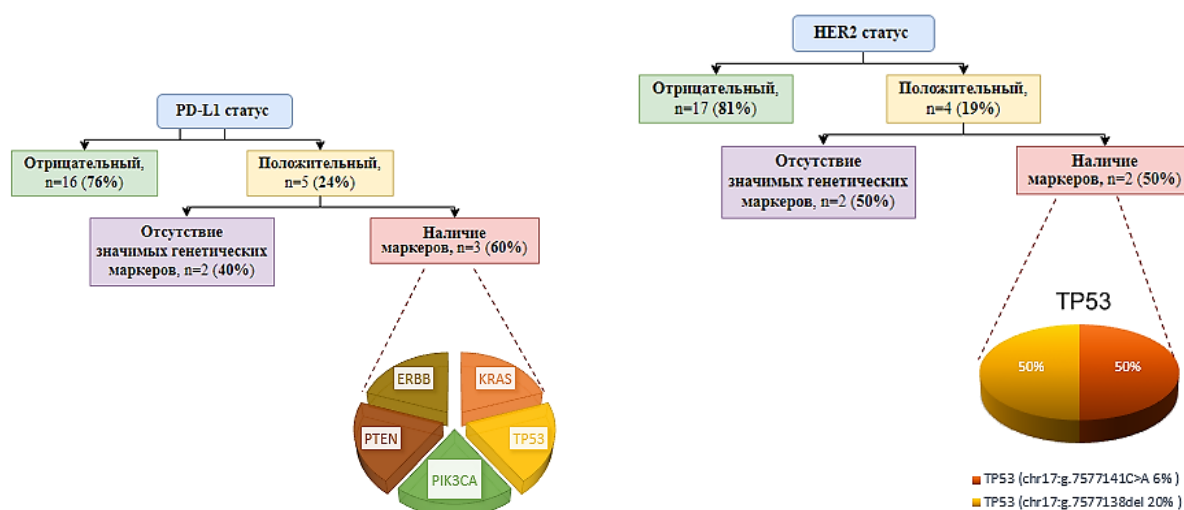


Рисунок 11 – Распределение мутаций в зависимости от PD-L1 статуса опухоли у больных раком желудка

Положительный HER2 статус был отмечен у 4 пациентов, из которых двое не имели маркеров, ассоциированных с ответом на терапию и имеющих отношение к фенотипу опухоли (рисунок 11).

По количеству мутаций, встречающихся у больных с разным статусом HER2 и PD-L1, значимых различий выявлено не было, однако имеются различия по распределению единичных мутаций среди больных в зависимости от ИГХ статуса опухоли. В случае положительного HER2 статуса опухоли показано увеличение количества пациентов с мутациями *TP53*. В случае положительного статуса по PD-L1 выявлено повышение процента опухолей с наличием мутаций *KRAS*, *PI3K* (chr3:g.178952085A>G; chr3:g.178936091G>A), *TP53*, *PIK3CA*, *PTEN*, *ERBB*.

Прогнозирование непосредственной эффективности комбинированного лечения у больных раком желудка на основе определения молекулярно-генетических маркеров

Прогнозирование непосредственной эффективности комбинированного лечения у больных РЖ является важной задачей современной онкологии. Однако, на данный момент отсутствуют значимые маркеры, которые могли бы точно предсказать ответ опухоли на терапию. Это затрудняет персонализированный подход и оптимизацию стратегии лечения. Исследования в этой области продолжаются, и разработка таких маркеров в будущем может существенно улучшить результаты лечения, тем самым, повысить выживаемость пациентов. На сегодняшний день при назначении терапии врачи опираются на комплексные

клинические данные и индивидуальные особенности каждого пациента для выбора наиболее эффективной схемы лечения.

Многофакторный анализ показал, что наиболее значимыми факторами более низкой безметастатической выживаемости у больных РЖ, получающих курсы персонализированной терапии, являлись экспрессия гена *PD-L1* ($OR = 4,497$; 95 % ДИ 1,614 - 14,02; $p = 0,0055$) и уровень экспрессии гена *PDK1* ($OR = 4,744$; 95 % ДИ 0,974 - 18,81; $p = 0,0321$). В проведенном исследовании была рассчитана математическая модель прогнозирования непосредственной эффективности комбинированного лечения у больных раком желудка с учетом этих факторов. А также определено значение регрессионной функции F .

Значение регрессионной функции (F) определялось по формуле (1):

$$F(x_1, x_2) = -2,8432 + b_1x_1 + b_2x_2 \quad (1)$$

где коэффициенты регрессионной функции: $b_1 = 0,1699$; $b_2 = -0,1243$; x_1 – уровень экспрессии гена *PD-L1*; x_2 – уровень экспрессии гена *PDK1*.

В последующем, используя значение регрессионной функции и основание натурального логарифма (e), рассчитывалась математическая модель в виде формулы для прогнозирования эффективности комбинированного лечения у больных операбельным раком желудка.

Общий вид математической модели (2):

$$P = \frac{1}{1 + e^{-F}} \quad (2)$$

где P – вероятность наступления благоприятного исхода; $e = 2,718$ – основание натурального логарифма; F – регрессионная функция.

При $P < 0,061$ – благоприятный исход, а при $P > 0,061$ – неблагоприятный исход. Чувствительность модели составила 96 %, специфичность – 60 %.

Для оценки качества логистической модели использовалась характеристика площади под ROC-кривой – AUC (Area Under Curve). Значение параметра AUC для данной модели составило 0,7351.

В качестве оптимального порога отсечения, позволяющего отнести полученные результаты к одному из двух классов, выбрано требование максимальной суммарной чувствительности и специфичности модели (3):

$$\text{Optimal cut-off value} = \max |Se + Sp| \quad (3)$$

где Se – чувствительность модели; Sp – специфичность модели.

Значение пороговой величины было определено на основании результатов вычислений координат ROC-кривой. Максимальное суммарное значение чувствительности и специфичности составило 1,2167, что соответствует порогу отсечения, равному 0,0612. Результаты построения ROC-кривой для данной модели отображены на рисунке 12.

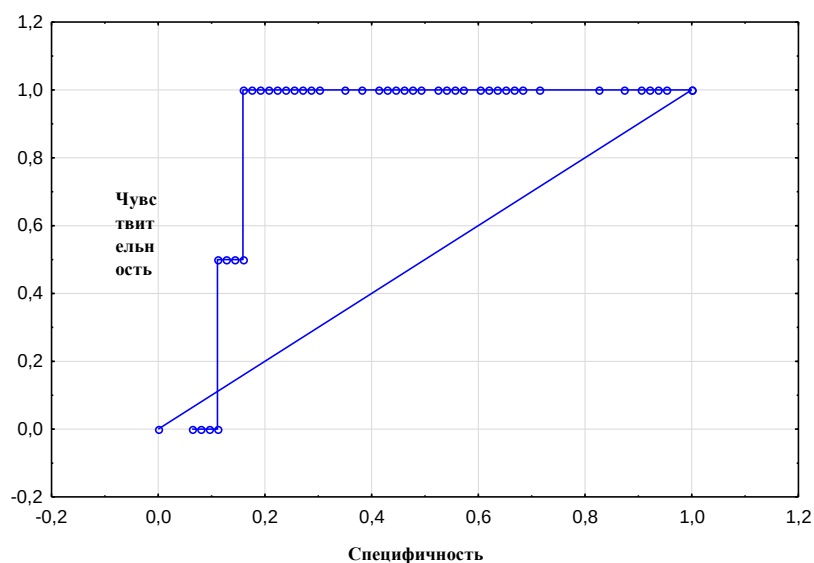


Рисунок 12 – ROC–кривая для модели, прогнозирующей выживаемость больных операбельным раком желудка

Отдалённые результаты комбинированного лечения

Прослежены отдалённые результаты лечения у всех пациентов, включенных в исследование. Все больные находились под диспансерным наблюдением поликлинического отделения НИИ онкологии Томского НИМЦ. Показатели были проанализированы нами в зависимости от схемы лечения. Медиана наблюдения за больными составила $26,29 \pm 6,68$ месяца, максимальный срок наблюдения составил 48 месяцев.

Был проведен сравнительный анализ выживаемости пациентов, получавших тотальную предоперационную терапию (FLOT8, FLOT8+иммуно/таргетная терапия), а также результаты лечения пациентов, получавших стандартную периоперационную терапию по схеме FLOT 4+4, и пациентов, которым проводилось только хирургическое лечение. Общая трехлетняя выживаемость составила 71,9 % и 81,7 % соответственно в группах FLOT8, FLOT8+иммуно/таргетная терапия, в группе FLOT 4+4 – 42,8 %, группа контроля – 17,5 %; по данным log-rank теста различия между группами статистически значимы ($\chi^2 = 46,5$, $df = 3$, $p < 0,0001$, рисунок 13).

Таким образом, перенос всех курсов лекарственной терапии на предоперационный этап, статистически значимо увеличивает общую выживаемость пациентов операбельным РЖ.

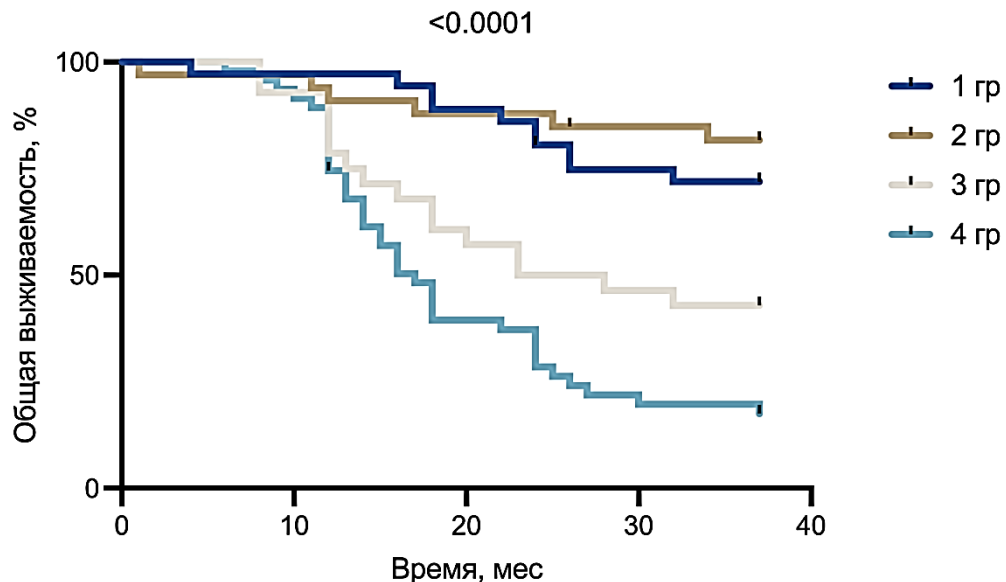


Рисунок 13 – Общая трехлетняя выживаемость больных раком желудка в зависимости от схемы комбинированного лечения

При оценке кривых выживаемости по методу Каплана-Майера выявлено, что у пациентов первой и второй основных групп безрецидивная выживаемость составила 64,1 % и 78,1 %, соответственно, в третьей основной группе FLOT 4+4 – 40,8 %, и 31,3 % в группе контроля, по данным log-rank теста различия между группами статистически значимо ($\chi^2 = 27,3$, $df = 3$, $p < 0,0001$) (рисунок 14).

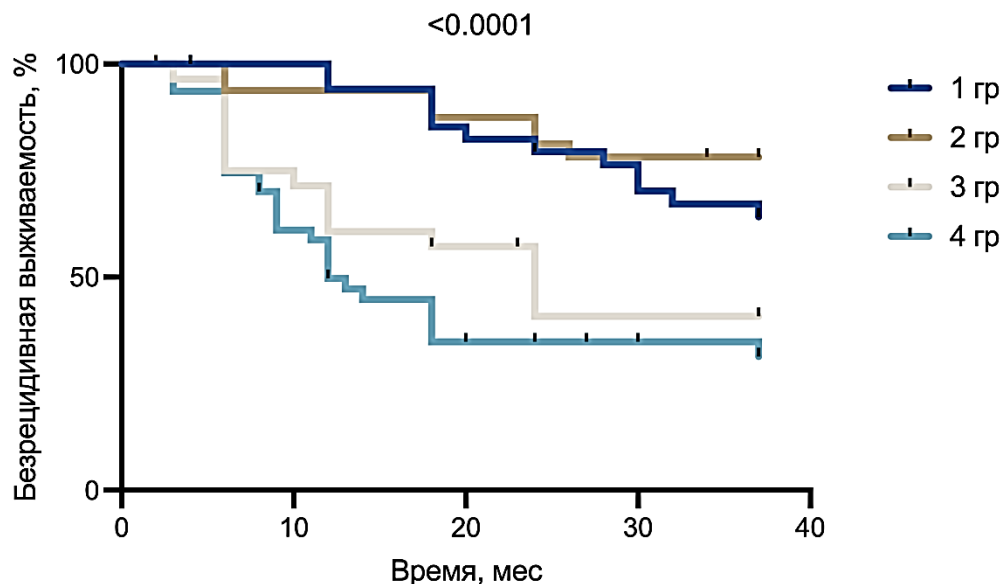


Рисунок 14 – Безрецидивная трехлетняя выживаемость больных раком желудка в зависимости от схемы лечения

Увеличение как общей, так и безрецидивной выживаемости связано прежде всего с тем, что большинство пациентов получают весь запланированный объём лекарственной терапии (на дооперационном этапе), а также с назначением персонифицированного лечения, на основе молекулярно-биологических особенностей опухоли. У пяти пациентов первой основной группы

прогрессирование опухолевого процесса выявлено в виде поражение регионарных лимфатических узлов; у одного пациента (2,8%) со стадией опухолевого процесса pT4N3M0 – на третий год наблюдения, у четырех пациентов (11,7%) в виде появления отдалённых метастазов (брюшина, кости скелета) – на четвёртый год наблюдения. Полученные в работе результаты позволили разработать алгоритм определяющий выбор программы персонализированного комбинированного лечения пациентов с операбельным РЖ cT2-4N0-3M0 на основании комплексного анализа клинικο- морфологических и молекулярно-генетических факторов (рисунок 15).

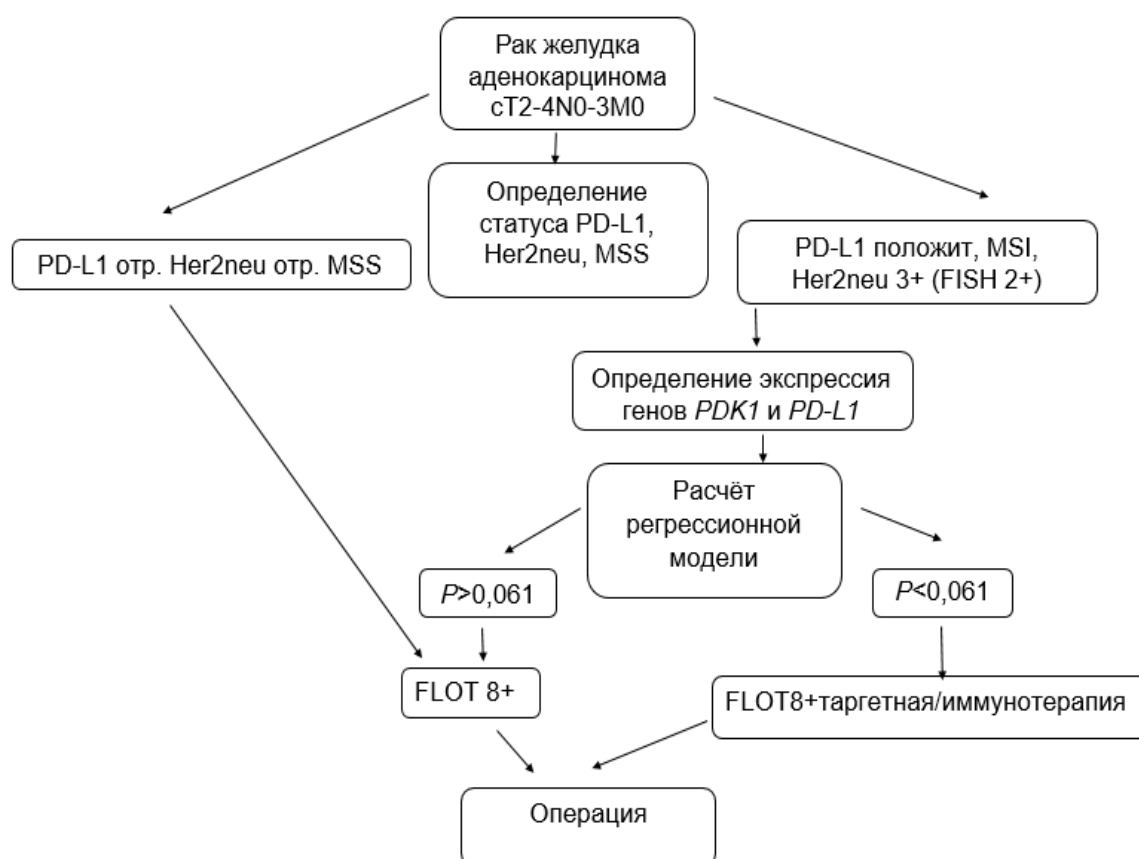


Рисунок 15 – Алгоритм комбинированного лечения больных операбельным раком желудка

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основной целью проведённой работы было улучшение непосредственных и отдалённых результатов лечения пациентов с операбельным раком желудка. Согласно литературным данным и собственным наблюдениям, неоадьювантная химиотерапия, в том числе по схеме FLOT, не оказывает негативного влияния на течение раннего послеоперационного периода и частоту послеоперационных осложнений. Вместе с тем периоперационная химиотерапия имеет существенное ограничение, связанное с низкой завершённостью адьювантного этапа лечения. С

клинико-патофизиологических позиций данное ограничение имеет принципиальное значение. Невозможность реализации полного объема лекарственного лечения после хирургического этапа означает не только уменьшение суммарной дозовой интенсивности терапии, но и сохранение условий для персистенции минимальной остаточной опухолевой болезни. Послеоперационный период сопровождается системным воспалительным ответом, нарушением нутритивного статуса, активацией репаративных процессов, изменением цитокинового и метаболического профиля, что в совокупности может формировать благоприятную среду для выживания остаточных опухолевых клеток и микрометастатических очагов.

С патофизиологической точки зрения перенос всего объема системной терапии на предоперационный этап представляется обоснованным. Воздействие на опухоль и потенциальные микрометастазы осуществляется до хирургической травмы и до развития послеоперационных метаболических и иммуновоспалительных сдвигов, которые могут ухудшать переносимость лечения и способствовать опухолевой прогрессии. Кроме того, предоперационное лекарственное воздействие реализуется в условиях сохраненного сосудистого русла опухоли, что теоретически может улучшать доставку препаратов и, соответственно, повышать вероятность достижения выраженного патоморфологического ответа.

В нашем исследовании высокую завершенность терапии (93,9 %) удалось достичь за счет двух ключевых подходов: (1) переноса всех 8 циклов химиотерапии в неоадьювантный период; (2) персонализации лечения на основании молекулярно-генетического профилирования – назначения таргетной терапии (трастузумаб) пациентам с HER2-позитивными опухолями и иммунотерапии (пембролизумаб) пациентам с экспрессией PD-L1 ($CPS \geq 10$). Благодаря проведению всего курса лечения до операции пациенты сохраняли более высокий функциональный статус (ECOG 0–1), что обеспечило возможность получения запланированного объема терапии без дозовой редукции или прерываний.

Перенос всего объема лекарственной терапии на предоперационный этап не привел к ухудшению хирургической переносимости лечения и не сопровождался ростом частоты тяжелых послеоперационных осложнений. Это имеет важное значение не только с практической, но и с патофизиологической точки зрения, поскольку свидетельствует об отсутствии критического негативного влияния интенсифицированной предоперационной терапии на репаративные процессы, тканевую регенерацию и функциональную готовность пациента к выполнению радикального хирургического вмешательства.

Частота полной морфологической регрессии опухоли чаще наблюдалась у пациентов, получивших весь запланированный этап лекарственной терапии перед операцией, и в среднем по группам составила 28,4 %.

При анализе отдаленных онкологических результатов в зависимости от режима системной терапии установлено, что показатели трехлетней общей

выживаемости (ОВ) у пациентов с раком желудка, получавших интенсифицированную неоадьювантную терапию (все циклы до операции), достоверно превышали таковые при стандартной периоперационной терапии и монохирургическом лечении. Применение персонализированного подхода с назначением таргетной терапии (трастузумаб) пациентам с HER2-позитивными опухолями и иммунотерапии (пембролизумаб) пациентам с экспрессией PD-L1 (CPS ≥ 10) позволило достичь следующих показателей трехлетней ОВ – 71,9 % – в группе FLOT8 (8 циклов неоадьювантно); 81,7 % – в группе FLOT8 в комбинации с таргетной/иммунотерапией; 42,8 % – в группе стандартной схемы FLOT 4+4; 17,5 % – в контрольной группе (хирургическое лечение). Различия между группами пациентов, получавших тотальную предоперационную терапию и периоперационное ПХТ были статистически значимыми по лог-ранговому критерию ($\chi^2 = 27,3$; $p < 0,001$).

Данный подход обеспечил эффективный контроль опухолевого процесса как на локорегионарном уровне, так и в плане профилактики отдаленного метастазирования в течение всего периода наблюдения.

С позиций онкологии и патологической физиологии данный результат представляется закономерным. Раннее системное воздействие на опухоль позволяет уменьшить объем жизнеспособной опухолевой массы до хирургического этапа, снизить вероятность лимфогенного и гематогенного диссеминарования, а также воздействовать на субклинические очаги метастазирования в тот период, когда общесоматическое состояние пациента еще позволяет реализовать полноценную программу лечения. Кроме того, включение таргетной и иммунной терапии в персонализированных подгруппах обеспечивает влияние не только на опухолевую клетку как таковую, но и на ключевые механизмы опухолевой прогрессии – HER2-зависимую активацию пролиферативных сигнальных путей и PD-1/PD-L1-опосредованное иммунное уклонение.

Однако при лечении операбельного РЖ остается достаточно большое количество нерешенных вопросов. Все чаще возникают сомнения, необходимо ли назначение лекарственной терапии при РЖ со стадией T2 или в данной клинической ситуации достаточно лишь оперативного вмешательства. Это, вероятнее всего, зависит от многих факторов, одним из которых являются возраст, соматическое состояние пациента и выраженность сопутствующей патологии. В последние годы РЖ все чаще диагностируется у молодых больных, а это, в свою очередь, имеет ряд клинико-морфологических особенностей по сравнению с пациентами старческого и пожилого возраста. Прежде всего опухолевый процесс характеризуется более агрессивным клиническим течением, повышенным риском лимфогенного метастазирования; нередко заболевание имеет отягощенный семейный анамнез и диагностируется на поздних стадиях.

Кроме того, в работе изучены молекулярно-генетические и биохимические особенности опухолей, а также их взаимосвязь с эффективностью проводимой терапии.

Было отмечено, что на эффективность комбинированного лечения при РЖ не влияет наличие значимых генетических маркеров как таковое, однако существуют различия в спектре мутаций. У пациентов без мутаций в панели генов-мишеней наблюдался ответ опухоли на лечение, в том числе полная регрессия. Центральную роль в патогенезе рака желудка играет дисфункция белка p53, кодируемого геном-супрессором *TP53*. Мутации в этом локусе регистрируются, по данным литературы, у 40 % пациентов и приводят к нарушению регуляции апоптоза и репарации ДНК. Исследования подтверждают редукцию экспрессии *TP53* в опухолевых клетках по сравнению с неизмененным эпителием. Эти данные позволяют рассматривать мутацию *TP53* как раннее событие в каскаде канцерогенеза, причем мутационная нагрузка ассоциирована с более агрессивным течением и худшим прогнозом.

С патофизиологической точки зрения нарушение функции *TP53* имеет принципиальное значение, поскольку сопровождается не только утратой контроля над клеточным циклом, но и снижением эффективности элиминации генетически поврежденных клеток, нарушением механизмов апоптоза и усилением геномной нестабильности. Это создает предпосылки для клональной эволюции опухоли, накопления дополнительных молекулярных нарушений и формирования фенотипа, устойчивого к проводимой терапии.

Распространенность мутаций в гене *TP53* нами была выявлена в HER2-положительных опухолях. Учитывая статус *TP53* и связанную с ним хромосомную нестабильность, можно предположить, что добавление ингибиторов PARP к стандартной анти-HER2-терапии позволит повысить эффективность лечения, в том числе у больных РЖ. Полученные данные требуют проведения мультицентровых исследований на репрезентативных выборках пациентов, что позволит уточнить прогностическую роль изучаемых молекулярных маркеров.

Кроме того, важные генетические маркеры могут влиять на биологические свойства злокачественного процесса и оказывать влияние на эффективность противоопухолевой терапии. Выявлено волнообразное изменение уровня мРНК PDK1, NF- κ B p65, LC3B, сочетающееся с глубиной инвазии первичной опухоли. Также отмечена взаимосвязь молекулярных особенностей опухоли с HER2- и PD-L1-статусом опухоли. Так, уровень мРНК PDK1, VEGFR2, VEGF, HIF-1 был повышен в опухоли с PD-L1-отрицательным статусом по сравнению с пациентами, имеющими положительный статус. Отмечено повышение экспрессии 4EBP1 и 70S 6-киназы в опухоли с положительным HER2-статусом по сравнению с пациентами с отрицательным статусом. Установлено, что экспрессия AKT, PD-L2 и 4EBP1 повышалась у пациентов, у которых зафиксирована стабилизация процесса, по сравнению с пациентами с регрессией опухолевого процесса, что подтверждает факт гиперэкспрессии AKT/mTOR сигнального каскада в онкогенезе.

Полученные результаты имеют существенное значение для патологической физиологии опухолевого процесса. Активация сигнального каскада АКТ/mTOR отражает переход опухоли к состоянию усиленного клеточного выживания, метаболической адаптации и устойчивости к повреждающему воздействию. Повышение экспрессии PDK1, VEGF, VEGFR2 и HIF-1 указывает на тесную связь сигнальных и метаболических перестроек с ангиогенезом и адаптацией к гипоксии. В этих условиях опухолевая ткань приобретает способность поддерживать пролиферацию и выживание даже на фоне лекарственного воздействия. Отмеченная ассоциация между активацией данных молекулярных путей и отсутствием регрессии опухоли позволяет рассматривать их как функциональные маркеры терапевтической устойчивости.

В исследовании выявлена ассоциация между экспрессией белков аутофагии и исходами лечения рака желудка. У пациентов с хорошим патологическим ответом на неoadъювантную терапию отмечена достоверно более высокая экспрессия белка Beclin-1 в опухолевой ткани по сравнению с группой прогрессирования/стабилизации заболевания ($p = 0,032$). Полученные данные указывают на двойственную роль аутофагии в патогенезе рака желудка: с одной стороны, индукция аутофагического потока может усиливать цитотоксический эффект химиотерапии, способствуя регрессу опухоли; с другой стороны, хроническая активация аутофагии в условиях терапевтического стресса может опосредовать адаптивную резистентность. Выявленные закономерности расширяют фундаментальные представления о молекулярно-генетических и биохимических особенностях рака желудка и открывают перспективы для разработки комбинированных стратегий с модуляцией аутофагии.

Таким образом, данные, полученные в настоящем исследовании, свидетельствуют о том, что чувствительность опухоли к терапии определяется не только клиническими характеристиками процесса и режимом лекарственного воздействия, но и глубинными особенностями молекулярной организации опухоли. Именно сочетание клинической интенсификации лечения с биологически обоснованной персонализацией позволяет рассчитывать на достижение максимального противоопухолевого эффекта.

И, несмотря на то, что терапия рака желудка несколько отстает от других нозологий в процессе внедрения в клиническую практику новых лекарственных препаратов, в настоящее время РЖ является одной из тех локализаций, на которой испытывают новые варианты персонализированного лечения. С целью уточнения и расширения показаний к назначению лекарственной терапии у больных операбельным РЖ необходимо продолжить набор клинического материала, возможно, путем проведения многоцентровых рандомизированных исследований. На основании проведенного исследования был разработан алгоритм лечения операбельного РЖ, со стадией процесса cT2-4N0-3M0 (рисунок 15).

В целом результаты проведенного исследования позволяют заключить, что интенсификация неoadъювантного этапа лечения в сочетании с персонализацией

системной терапии на основе молекулярно-генетических характеристик опухоли является обоснованным и перспективным направлением лечения операбельного рака желудка. Предложенный подход обеспечивает не только повышение непосредственной эффективности терапии и увеличение частоты полного патоморфологического ответа, но и сопровождается улучшением отдаленных онкологических результатов без существенного увеличения токсичности и без ухудшения течения хирургического этапа. С позиций онкологии и патологической физиологии это подтверждает, что индивидуализация лечения должна базироваться не только на клинической стадии процесса, но и на молекулярных механизмах опухолевой прогрессии, лекарственной чувствительности и терапевтической резистентности.

ВЫВОДЫ

1. Разработаны и внедрены в клиническую практику новые схемы комбинированного лечения больных операбельным раком желудка с применением тотальной предоперационной терапии с учетом молекулярно-генетического профиля первичной опухоли.
2. При сравнении переносимости схем FLOT8, FLOT8 в сочетании с иммуно- или таргетной терапией и FLOT 4+4 установлено, что уровень токсичности и спектр нежелательных явлений являются сопоставимыми. Персонализированная тотальная предоперационная терапия не оказывает отрицательного влияния на течение периоперационного периода. Перенос всех курсов лекарственной терапии на предоперационный этап сопровождается повышением комплаентности лечения до 93,9 %.
3. Частота полного морфологического ответа после проведения тотальной предоперационной терапии составила 14,7 % и 30,2 % в группах FLOT8 и FLOT8 в сочетании с иммуно- или таргетной терапией соответственно.
4. Общая трехлетняя выживаемость составила 71,9 % и 81,7 % в группах FLOT8 и FLOT8 в сочетании с иммуно- или таргетной терапией соответственно, по сравнению с 42,8 % – в группе FLOT 4+4 и 17,5 % – в группе контроля. Различия между группами статистически значимы (log-rank тест, $\chi^2 = 46,5$; $df = 3$; $p < 0,0001$).
5. Установлено, что с увеличением глубины инвазии первичной опухоли наблюдается повышение уровня PDK, c-RAF и p70S6-киназы в 6,5; 322 и 770 раз соответственно. При увеличении количества пораженных регионарных лимфатических узлов отмечено повышение экспрессии c-RAF и PTEN, а также снижение уровня мРНК mTOR. У пациентов с положительным PD-L1-статусом выявлено снижение экспрессии 4EBP1, c-RAF и PDK1 в 2,5 раза, а также уменьшение экспрессии VHL и содержания белка LC3B в 2,0 и 4,5 раза соответственно по сравнению с пациентами с отрицательным PD-L1-статусом ($p < 0,05$).
6. В процессе проведения тотальной предоперационной терапии выявлено снижение экспрессии 4EBP1 в 2,2 раза, а также увеличение экспрессии VEGF в

7,25 раза и CAIX в 5,1 раза. У пациентов со стабилизацией опухолевого процесса отмечено повышение содержания Vescin-1 в 1,4 раза по сравнению с больными с частичной регрессией опухоли ($p < 0,05$).

7. Установлена связь между распространенностью опухолевого процесса, метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов и наличием мутации гена *TP53* ($\chi^2 = 9,99$, $p = 0,01$; $\chi^2 = 10,4$, $p = 0,01$ соответственно). Показано, что мутации гена *TP53* чаще выявляются у пациентов с положительным HER2-статусом (в 50 % случаев).

8. Показано, что лучший ответ на лечение наблюдается у пациентов без значимых мутаций: полная регрессия опухоли достигается в 33 % случаев, частичная – в 64 %. У пациентов с единичными мутациями частичная регрессия отмечена в 75 % случаев. При наличии двух и более мутаций частота частичной регрессии составляет 33 %, что в два раза ниже по сравнению с пациентами с единичными мутациями.

9. Установлено, что наличие ДНК *Helicobacter pylori* ассоциировано с увеличением экспрессии CAIX в 7,4 раза и повышением уровня PTEN в 1,6 раза. При наличии ДНК вируса Эпштейна–Барр отмечено снижение экспрессии mTOR в 6,2 раза, а при сочетанном инфицировании – снижение экспрессии AKT в 5,38 раза по сравнению с пациентами без выявленных инфекционных агентов ($p < 0,05$).

10. Разработана математическая модель, позволяющая прогнозировать непосредственную эффективность комбинированной терапии, включающей тотальную предоперационную лекарственную терапию и последующее хирургическое лечение у больных раком желудка.

11. Разработан персонифицированный алгоритм комбинированного лечения больных операбельным раком желудка.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При выборе тактики комбинированного лечения больных операбельным раком желудка необходимо, помимо оценки распространенности опухолевого процесса, проводить определение молекулярно-биологических характеристик опухоли, включая PD-L1-статус, MSI-статус и HER2-статус, с целью обоснования возможности включения иммуно- и таргетной терапии.

2. Больным операбельным раком желудка целесообразно проведение тотальной предоперационной лекарственной терапии с последующим выполнением радикального хирургического вмешательства, что обеспечивает высокую комплаентность лечения и улучшение отдаленных результатов.

3. Для прогнозирования ответа опухоли на проводимую терапию у больных операбельным раком желудка следует использовать математическую модель, основанную на определении экспрессии PD-L1 и PDK1. Применение модели позволяет прогнозировать эффективность лечения с чувствительностью 96 % и специфичностью 60 %.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВЭБ	– вирус Эпштейна-Барр
ИТ	– иммунотерапия
и/т	– иммуно/таргетная терапия
ЛП	– лечебный патомофоз
НАХТ	– неоадьювантная химиотерапия
ПХТ	– полихимиотерапия
РЖ	– рак желудка
<i>H.pylory</i>	– <i>Helicobacter pylory</i>

Список работ, опубликованных автором по теме диссертации

1. Августинovich, А. В. Результаты комбинированных операций при местнораспространенном раке желудка / С. Г. Афанасьев, **А. В. Августинovich**, С. А. Тузиков, А. В. Пак, М. Ю. Волков, И. Н. Савельев, И. Г. Фролова // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. – 2013, № 2. – С. 12-15.
2. Августинovich, А. В. Непосредственная эффективность неоадьювантной химиотерапии рака желудка / С. Г. Афанасьев, **А. В. Августинovich**, М. Л. Степанова, И. М. Давыдов, И. В. Степанов, М. В. Завьялова, И. Г. Фролова, И. Н. Савельев, Е. Н. Самцов, О. В. Черемисина // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2014. – Т. 17, № 1 (48). – С. 68-74.
3. Avgustinovich, A. V. Molecular Mechanism of Resistance to Chemotherapy in Gastric Cancers, the Role of Autophagy / L. V. Spirina, **A. V. Avgustinovich**, S. G. Afanas'ev, O. V. Cheremisina, M. Yu. Volkov, E. L. Choynzonov, A. K. Gorbunov, E. A. Usynin // Current Drug Targets. – 2020. – Vol. 21, № 7. – P. 713-721. – doi: 10.2174/1389450120666191127113854.
4. Августинovich, А. В. АКТ/MTOR сигнальный каскад и экспрессия PD-1, PD-L1, PD-L2 при раке желудка / Л. В. Спирина, **А. В. Августинovich**, С. Г. Афанасьев, И. В. Кондакова, М. Ю. Волков, А. Ю. Добродеев, А. И. Боронкина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т. 170, № 7. – С. 91-95.
5. Августинovich, А. В. Влияние неоадьювантной терапии на экспрессию молекулярных маркеров в ткани желудка / Л. В. Спирина, **А. В. Августинovich**, С. Г. Афанасьев, М. Ю. Волков // Злокачественные опухоли. – 2020. – Т. 10, № 1. – С. 29-34. – doi: 10.18027/2224505720201029-34.
6. Avgustinovich, A. V. PD-L1 Status in Gastric Cancers, Association with the Transcriptional, Growth Factors, АКТ/mTOR Components Change, and Autophagy Initiation / L. Spirina, **A. Avgustinovich**, S. Afanas'ev, M. Volkov, A. Dobrodeev, O. Cheremisina, D. Kostromitsky // International Journal Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – P. 11176. <https://doi.org/10.3390/ijms222011176>.
7. Августинovich, А. В. Экспрессия и содержание белка LC3В в тканях рака желудка, взаимосвязь с экспрессией mTOR и AMPK в тканях рака желудка, а также статусом HER2 и PD-L1 в опухоли / Л. В. Спирина, **А. В. Августинovich**, С. Г. Афанасьев, М. Ю. Волков, И. В. Кондакова // Бюллетень экспериментальной

биологии и медицины. -2021. – Т. 172, № 8. – С. 236-239. - doi: 10.47056/0365-9615-2021-172-8-236-239.

8. Августинovich, А. В. Непосредственная эффективность и токсичность тотальной неоадьювантной химиотерапии операбельного рака желудка / **А. В. Августинovich**, С. Г. Афанасьев, А. Ю. Добродеев, М. Ю. Волков, Д. Н. Костромицкий, Л. В. Спирина, О. В. Черемисина // Сибирский онкологический журнал. – 2022. – Т. 21, № 1. – С. 11–19. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-1-11-19.

9. Avgustinovich, A. V. Nanoparticles in gastric cancer management / **A. V. Avgustinovich**, O. V. Bakina, S. G. Afanas'ev, O. V. Cheremisina, L. V. Spirina, A. Y. Dobrodeev, M. A. Buldakov, E. L. Choynzonov // Current Pharmaceutical Design. - 2021. – Vol. 27, № 21. – P. 2436-44. doi:10.2174/1381612826666201120155120.

10. Avgustinovich, A. V. LC3B, mTOR, AMPK Are Molecular Targets for Neoadjuvant Chemotherapy in Gastric Cancer / L. V. Spirina, **A. V. Avgustinovich**, O. V. Bakina, S. G. Afanas'ev, M. Yu. Volkov, A. Y. Kebekbayeva // Current Issues Molecular Biology. – 2022. – Vol. 44. – P. 2772-2782. doi: 10.3390/cimb44070190.

11. Августинovich, А. В. Влияние *Helicobacter pylori* и вируса Эпштейна-Барр на изменение экспрессии транскрипционных, ростовых факторов, PD-1, PD-L1, PD-L2 и белка LC3B в ткани рака желудка / **А. В. Августинovich**, Л. В. Спирина, С. Г. Афанасьев, М. Ю. Волков, А. Б. Доспан // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2023. – Т. 12, № 2. – С. 14-22. doi: 10.33029/2305-3496-2023-12-2-14-22

12. Avgustinovich, A. V. Safety and Efficacy of Neoadjuvant Chemoimmunotherapy in Gastric Cancer Patients with PD-L1 Positive Status: A Case Report / **A. V. Avgustinovich**, O. V. Bakina, S. G. Afanas'ev, L. V. Spirina, A. M. Volkov // Current Issues Molecular Biology – 2023 Sep 19. – Vol. 45, № 9. – P. 7642-7649. doi: 10.3390/cimb45090481.

13. Avgustinovich, A. V. Target Sequencings in Gastric Cancer: Association with Tumor Molecular Characteristic and FLOT Therapy Effectiveness / L. V. Spirina, **A. V. Avgustinovich**, O. V. Bakina, S. G. Afanas'ev, A. M. Volkov, S. V. Vtorushin, I. Kovaleva, T. Klyushina, I. Munkuev // Current Issues Molecular Biology. – 2024. – Vol. 46. – P.1281-1290, doi: 10.3390/cimb46020081.

14. Августинovich, А. В. Случай полной морфологической регрессии при комбинированном лечении резектабельного Her2/неу-позитивного рака желудка / **А. В. Августинovich**, С. Г. Афанасьев, Л. В. Спирина, Е. В. Кайгородова, Р. В. Ермоленко, Е. Н. Самцов, И. Г. Фролова, О. В. Черемисина // Сибирский онкологический журнал. – 2024. – Т. 23, № 1. – С. 170-177. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2024-23-1-170-177>.

15. Августинovich, А. В. Содержание белков 20S протеасом, Hsp27 и LC3B в экзосомах плазмы крови больных раком желудка, связь с метаболическими нарушениями / Л. В. Спирина, **А. В. Августинovich**, А. А. Баркышева, В. А. Богданова, С. Г. Афанасьев, Д. А. Сваровский, Н. В. Юнусова // Вопросы

онкологии. – 2024. – Т. 70, № 5. – С. 894-902. -doi: 10.37469/0507-3758-2024-70-5-894-902.

16. Августинovich, А. В. Содержание белков, ассоциированных с аутофагией в ткани опухоли желудка, их связь с клинико-морфологическими особенностями злокачественного процесса и эффективностью проводимого комбинированного лечения / **А. В. Августинovich**, С. Г. Афанасьев, Л. В. Спирина, Т. С. Ключина, Д. А. Скворцова // Вопросы онкологии. – 2024. – Т. 70, № 5. – С. 887-893. - doi: 10.37469/0507-3758-2024-70-5-887-893

Патенты на изобретения

1. Патент № 2756870 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/337, А61К 31/282, А61К 31/513, А61К 39/395. Способ комбинированного лечения операбельного рака желудка с позитивным PDL-статусом: № 2020137815: заявл. 17.11.2020: опубл. 06.10.2021 / А. В. Августинovich, С. Г. Афанасьев, Л. В. Спирина, А. Ю. Добродеев, Е. Н. Самцов, К. Ю. Меншиков, И. Г. Фролова; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ).

2. Патент № 2739107 С1 Российская Федерация СПК G01N 33/48 Способ диагностики рака желудка с гиперэкспрессией Her2neu: № 2020118651: заявл. 05.06.202 : опубл. 21.12.2020 / Брагина О. Д., Чернов В. И., Зельчан Р. В., Медведева А. А., Деев С. М., Толмачев В. М., Августинovich А. В., Афанасьев С. Г. заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ).

3. Патент № 2762319 С1 Российская Федерация, СПК А61К 31/337, А61К 31/282, А61К 31/513, А61К 39/395 Способ комбинированного лечения операбельного рака желудка с гиперэкспрессией Her2neu: № 2020137814: заявл. 17.11.2020: опубл. 17.12.2021 / Августинovich А. В., Афанасьев С. Г., Спирина Л. В., Добродеев. А. Ю., Волков М. Ю., Брагина О. Д., Чернов В. И. заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ).

4. Патент № 2765845 С1 Российская Федерация, СПК А61N 5/10, А61В 17/00, А61К 31/282, А61К 31/7068, А61К 31/7115, А61Р 35/00 Способ комбинированного лечения местнораспространённого кардиоэзофагельного рака: № 2021104658: заявл. 24.02.2021: опубл. 03.02.2022 / Августинovich А. В., Афанасьев С. Г., Спирина Л. В., Добродеев А. Ю., Волков М. Ю., Самцов Е. Н., Фролова И. Г., Старцева Ж. А. заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный

исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ).

5. Патент на изобретение № 2831907 С1 Российская Федерация, СПК G01N 33/50, G01N 33/57446, C12Q 1/6804, C12Q 1/6844, C12Q 1/6876, C12Q 1/6886, C12Q2521/107, C12Q2600/158 Способ прогнозирования исхода у больных раком желудка после комбинированного лечения, включающего неоадьювантную химиотерапию по схемам FOLFOX6 или FLOT и хирургическое лечение: № 2024107815: заявл. 25.03.2024: опубл. 16.12.2024 / Спирина Л. В. Августинovich А. В., Афанасьев С. Г., Волков М. Ю., Ковалева И. В., Ключина Т. С. заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ).