

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

Сунь Хэнянь

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ
НЕСТАБИЛЬНОСТИ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
академик РАН, профессор,
доктор медицинских наук
Стилиди Иван Сократович

Москва –2024 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 ЭПИДЕМИОЛОГИЯ РЖ.....	13
1.2 МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЖ.....	13
1.3 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ РАКА ЖЕЛУДКА.....	15
1.3.1 Исследование The Cancer Genome Atlas (TCGA)	16
1.3.2 Классификация Asian Cancer Research Group (ACRG)	18
1.4 МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ MSI ПРИ РЖ	18
1.5 ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ПРИ РЖ	23
1.6 МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ.....	26
1.6.1 Иммуногистохимия	27
1.6.2 Флуоресцентная мультиплексная ПЦР.....	29
1.6.3 Метод NGS (Next generation sequencing)	31
1.7 ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ И ПРЕДИКТИВНАЯ РОЛЬ MSI-СТАТУСА ПРИ РЖ.....	32
1.8 БИОМАРКЕРЫ ИММУННЫХ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК У БОЛЬНЫХ РЖ.....	37
1.8.1 Экспрессия PD-L1	37
1.8.2 Микросателлитная нестабильность	39
1.8.3 Вирус Эпштейна-Барр	41
1.8.4 Мутационная нагрузка опухоли (TMB, Tumor mutational burden).....	42
1.9 ПЕРИОПЕРАЦИОННАЯ ХИМИО-ИММУНОТЕРАПИЯ РЖ С MSI СТАТУСОМ.....	44
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	46
2.1 ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИИ	47
2.2 МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ MSI-СТАТУСА	47
2.3 ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ PD-L1	48
2.4 РЕЖИМ ИСПОЛЬЗОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ТЕРАПИИ	49
2.5 ВИД ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ	50
2.6 ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ЛЕЧЕБНОГО ПАТОМОРФОЗА (TRG, Tumor Regression Grade).....	51
2.7 КРИТЕРИИ RECIST 1.1	51
2.8 МЕТОДЫ СТАТИСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДАННЫХ	52

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	53
3.1 ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП	53
3.1.1 Частота выявления микросателлитной нестабильности	53
3.1.2 Клинико-морфологические характеристики больных	54
3.1.3 Обсуждение	57
3.2 РЕЗУЛЬТАТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РЕЗЕКТАБЕЛЬНЫМ РАКА ЖЕЛУДКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ MSI-СТАТУСА	58
3.2.1 Общая характеристика пациентов.....	58
3.2.3 Отдалённые результаты лечения.....	62
3.3 РЕЗУЛЬТАТЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РЕЗЕКТАБЕЛЬНЫМ РАКА ЖЕЛУДКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ MSI-СТАТУСА	64
3.3.1 Общая характеристика пациентов.....	64
3.3.2 Характеристика проведённого хирургического лечения.....	66
3.3.3 Отдалённые результаты хирургического лечения.....	67
3.3.4 Обсуждение	69
3.4 РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ РЕЗЕКТАБЕЛЬНЫМ РАКА ЖЕЛУДКА, ПОЛУЧИВШИХ ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ С ХИМИОТЕРАПИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ MSI- СТАТУСА.....	72
3.4.1 Общая характеристика пациентов.....	72
3.4.2 Общая характеристика проведённого химиотерапия	74
3.4.3 Отдалённые результаты лечения.....	75
3.5 РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ РЕЗЕКТАБЕЛЬНЫМ РАКА ЖЕЛУДКА, ПОЛУЧИВШИХ ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ С АДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ MSI-СТАТУСА	76
3.5.1 Общая характеристика пациентов.....	76
3.5.2 Общая характеристика проведённого лечения	78
3.5.3 Отдалённые результаты лечения.....	79
3.5.4 Обсуждение	81
3.6 РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ, ПОЛУЧИВШИХ ПЕРИОПЕРАЦИОННУЮ ХИМИОТЕРАПИЮ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ MSI-СТАТУСА	85

3.6.1 Общая характеристика пациентов.....	85
3.6.2 Общая характеристика проведённого лечения	87
3.6.3 Отдалённые результаты комбинированного лечения	89
3.6.4 Обсуждение	96
3.7 Корреляция статуса MSI с экспрессией PD-L1 (CPS)	99
3.7.1 Общая характеристика пациентов.....	99
3.7.2 Обсуждение	101
3.8 РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ РЕЗЕКТАБЕЛЬНЫМ РЖ С MSI-СТАТУСОМ, ПОЛУЧИВШИХ ПЕРИОПЕРАЦИОННУЮ ХИМИОИММУНОТЕРАПИЮ	102
3.8.1 Общая характеристика пациентов.....	103
3.8.2 Описание клинического случая.....	106
3.8.3 Обсуждение	110
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	113
ВЫВОДЫ	117
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	118
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	119
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	120

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Рак желудка (РЖ) - гетерогенная группа злокачественных опухолей, исходящих из клеток слизистой оболочки желудка. Являясь одной из самых распространенных злокачественных опухолей человека, занимает 5-е место в структуре заболеваемости и 3-е место в структуре смертности от злокачественных новообразований в Российской Федерации (РФ) [2].

Тактика лечения аденокарциномы желудка определяется клинико-морфологическими характеристиками заболевания и биологией опухоли. В последнее время с целью повышения эффективности терапии идет активный поиск молекулярных маркеров для определения эффективности лекарственного лечения и прогноза течения заболевания. Благодаря внедрению методов секвенирования ДНК и РНК, анализа CNV (изменение числа копий) и метилирования ДНК стало возможным классифицировать РЖ на молекулярные подтипы, что позволяет получить более детализированную информацию об опухоли помимо гистологических характеристик. Последние исследования показали возможность классифицировать РЖ в зависимости от молекулярного статуса для подбора оптимальной терапии. Рабочие группы The Cancer Genome Atlas (TCGA) и Asian Cancer Research Group (ACRG) предложили разделить рак желудка на 4 подтипа [38,42]. Несмотря на различные проанализированные когорты РЖ и разнообразие применяемых для классификации молекулярных подходов, оба исследования смогли выделить подгруппу микросателлитной нестабильности (MSI) как специфическую и четко определенную группу РЖ.

MSI-статус связан с дефицитом системы репарации неспаренных оснований ДНК и характеризуется накоплением изменений длины микросателлитных последовательностей. Частота выявления MSI-статуса при РЖ по разным данным составляет 5,6-33% от всех случаев РЖ [78,95]. В двух мета-анализах показано, что MSI статус опухоли является маркером благоприятного прогноза. Также по

данным различных исследований, пациенты с MSI-статусом не получают преимущества от проведения адъювантной или периоперационной химиотерапии. Метаанализ MSI-GC-01, который объединил данные исследований MAGIC и CLASSIC в зависимости от MSI-статуса в опухоли показал, что химиотерапия у пациентов с MSI не улучшает показатели выживаемости [132]. По данным исследования MAGIC, ни у одного из пациентов с MSI-статусом после предоперационной химиотерапии не было достигнуто значительного лечебного патоморфоза опухоли (степень TRG 1 или 2 по Mandard), тогда как среди пациентов с MSS-опухолями в 20 (16,3%) случаях из 123 был отмечен лечебный патоморфоз степень TRG-1 или TRG-2 ($p=0,22$) [159].

Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа – ниволумаб и пембролизумаб – зарегистрированы для лечения пациентов с метастатическим РЖ, однако демонстрируют ограниченные результаты в неотобранной популяции пациентов. Предикторами эффекта являются высокий уровень экспрессии PD-L1, наличие MSI-статуса и, вероятно, EBV-положительные опухоли. В последнее время активно обсуждается возможность проведения периоперационной иммунотерапии у больных РЖ с MSI-статусом. Так, в исследовании Zhang и соавт. у 5 из 6 пациентов с MSI местнораспространенным раком желудка, получивших периоперационную химиоиммунотерапию, достигнут полный патоморфологический ответ [190]. Схожие результаты показаны и во IIb фазе исследования DANTE, где добавление атезолизумаба к периоперационному режиму FLOT позволило достигнуть полного лечебного патоморфоза у 6 из 10 (60%) пациентов с MSI-статусом [9]. Возможность отказа от химиотерапии в пользу комбинированной иммунотерапии ниволумабом и ипилимумабом была показана в II фазе исследования NEONIPIGA, где после 12 недель терапии полный лечебный патоморфоз составил те же 58,6%, лишь в 1 случае (3%) было отмечено прогрессирование заболевания в процессе терапии [14].

Разнообразие опубликованных данных в литературе подчеркивает важность проведения всестороннего анализа клинического значения MSI-статуса в опухоли и его взаимосвязи с другими клинико-морфологическими факторами, которые

могут влиять на результаты лечения больных раком желудка.

Цель исследования

Улучшение результатов лечения больных раком желудка за счет дифференцированного подхода к комбинированному лечению с учетом статуса микросателлитной нестабильности опухоли.

Задачи исследования

1. Оценка частоты выявления микросателлитной нестабильности и анализ клинико-морфологических характеристик у больных раком желудка.
2. Оценка прогностической значимости микросателлитной нестабильности у больных операбельным раком желудка.
3. Анализ эффективности периоперационной и адъювантной химиотерапии у больных раком желудка в зависимости от статуса микросателлитной нестабильности.
4. Оценка корреляции статуса микросателлитной нестабильности с экспрессией PD-L1 у больных раком желудка.
5. Изучение эффективности периоперационной химио-иммунотерапии у больных операбельным раком желудка с наличием микросателлитной нестабильности.

Научная новизна

Впервые в России на большом клиническом материале изучены особенности клинического течения заболевания при локализованных формах рака желудка с учетом MSI-статуса опухоли, оценено прогностическое значение MSI-статуса в отношении отдаленных результатов лечения и эффективности комбинированного лечения с применением современных схем химиотерапии.

Оценена частота полной регрессии опухоли после периоперационной химиотерапии, показатели 1-годичной и 2-годичной выживаемости. Впервые оценена эффективность периоперационной химио-иммунотерапии РЖ с MSI-статусом.

Теоретическая и практическая значимость работы

На основании анализа большого клинического материала изучены отдаленные результаты комбинированного лечения пациентов РЖ с учетом статуса микросателлитной нестабильности и клинико-морфологических характеристик. Доказана целесообразность дифференцированного подхода к комбинированному лечению пациентов РЖ с учетом MSI-статуса. Определены факторы, влияющие на благоприятный и неблагоприятный прогноз. Изучена частота и характер прогрессирования заболевания в зависимости от вида применяемого лечения на основании статуса микросателлитной нестабильности.

Методология и методы исследования

В исследование включено 728 пациентов с диагнозом раком желудка, получивших лечение (хирургическое, комбинированные и лекарственное) в НМИЦ онкологии им Н.Н. Блохина в период с сентября 2019г. по февраль 2023г. Мы проанализировали медицинские документы всех пациентов, соответствующих критериям включения. Оцениваемыми параметрами были: характеристики пациентов, ответ на проведенное лечение, морфологические и молекулярные характеристики опухоли, схемы лекарственного лечения, а также безрецидивная выживаемость (БРВ) и общая выживаемость (ОВ).

Проведен сбор данных о возрасте, поле больных, локализации опухоли, хирургическом методе, типе резекции, стадирование по 8-ой классификации AJCC-TNM, степени дифференцировки опухоли, сосудистой инвазии, периневральной инвазии, соотношении удаленных и метастатических

лимфатических узлов. Стадирование заболевания проводилось на основании данных эзофагогастродуоденоскопии с эндосонографией, компьютерной томографии органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза с внутривенным контрастированием, диагностической лапароскопии при локализованной форме РЖ. Статус лимфатических узлов (cN0 или cN+) определяли в соответствии с их диаметром, формой и характером контрастирования.

Вид оперативного вмешательства выбирали в зависимости от локализации опухоли. Больным с аденокарциномой пищеводно-желудочного перехода I-II типа по Siewert выполнялась операция по типу Льюиса. Объем операции у больных с опухолями III типа определялось в зависимости от уровня поражения пищевода. При раке проксимального отдела или тела желудка выполнялась гастрэктомия с D2 лимфодиссекцией. При раке дистального отдела желудка выполнялась дистальная субтотальная резекция желудка с D2 лимфодиссекцией.

В качестве химиотерапии применялись режимы FLOT (доцетаксел, оксалиплатин, лейковорин, фторурацил), FOLFIRINOX (ириротекан, оксалиплатин, лейковорин, фторурацил), mFOLFOX6 (оксалиплатин, лейковорин, фторурацил) или XELOX (оксалиплатин, капецитабин). С конца 2021 года у пациентов с MSI опухолями к режимам химиотерапии стал добавляться ниволумаб в дозе 240 мг в/в каждые 2 недели или пембролизумаб 200 мг в/в каждые 3 недели.

Оценка экспрессии PD-L1 в опухолевых клетках и/или иммунных клетках опухолевого микроокружения проводилась с помощью иммуногистохимического анализа. Иммуногистохимический анализ проводили на парафиновых срезах опухолевой ткани на автоматическом иммуногистостейнере Dako EnVision Flex, с использованием антител Anti-PD-L1 Dako 22C3. Положительной считалась экспрессия PD-L1 не менее 1 в опухолевых и/или иммунных клетках. Микросателлитная нестабильность определялась в образцах ДНК, выделенных из опухолевой ткани, полученных со срезов парафиновых блоков под контролем врача-патоморфолога, методом ПЦР (полимеразной цепной реакцией) с

использованием панели из пяти моноклеотидных маркеров (BAT25, BAT26, NR21, NR24, NR27), с последующим проведением фрагментного анализа. Статистический анализ проводился с помощью пакета статистических программ RStudio (ver. 2023.03.0+386). Отдалённые результаты представлены в виде актуальной выживаемости, рассчитанной по методу Kaplan-Meier. Для оценки прогностического значения исследуемых факторов построены прогностические модели регрессионного анализа пропорциональных рисков по Cox.

Положения, выносимые на защиту

Частота выявления MSI в российской популяции составила 8,52%, MSI-статус при резектабельном РЖ обнаружен у 11,65% пациентов (53/455) и у 3,30% пациентов (9/273) при диссеминированном РЖ ($p < 0,001$). Пациентам с MSI статусом нецелесообразно назначать периоперационную химиотерапию ввиду ее низкой эффективности и токсичности, а также более худших непосредственных и отдаленных результатов лечения. У больных раком желудка с MSI-статусом опухолевый процесс характеризуется определёнными гистологическими и молекулярными особенностями, клиническим течением заболевания и ответом на противоопухолевое лечение. Комбинация ингибиторов иммунных контрольных точек с химиотерапией позволяет достичь высокой частоты полной морфологической регрессии опухоли, а именно – в 50% (6/12) случаев у пациентов с MSI-статусом.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют области науки 3. Медицинские науки, группе научных специальностей 3.1. Клиническая медицина, шифру научных специальностей 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, направлению исследований п. 10. Оценка эффективности противоопухолевого лечения на основе анализа отдаленных результатов.

Степень достоверности и апробация результатов

Исследование согласуется с современными представлениями и опубликованными результатами исследований по изучению клинического значения микросателлитной нестабильности в лечении больных раком желудка. В работе приводится сравнение полученных в результате исследования данных с опубликованными в литературе данными. Достоверность и надежность представленных результатов основаны на адекватном отборе изучаемой группе больных, подборе соответствующих молекулярных методик исследования и корректной статистической обработке данных.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на международном форуме «Белые ночи» (г. Санкт-Петербург, 2023 год), конференции ASCO Gastrointestinal Cancers Symposium (г.Сан-Франциско, США, 2024 год).

Апробация работы состоялась 27 октября 2023 года на совместной научной конференции кафедры онкологии и лучевой терапии лечебного факультета ФГАОУ ВО «РНИМУ имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, отделения абдоминальной онкологии №1, отделения абдоминальной онкологии №2 (опухолей гепатопанкреатобилиарной зоны), отделения абдоминальной онкологии №3 (колопроктологии), отделения абдоминальной онкологии №4 (эндокринной хирургии), отделения торакальной онкологии, отделения противоопухолевой лекарственной терапии №1, отделения противоопухолевой лекарственной терапии №2, отделения противоопухолевой лекарственной терапии №4 отдела лекарственного лечения НИИ клинической онкологии им. академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Публикации по теме диссертации

Материалы диссертационного исследования изложены в полном объеме в 4 научных статьях, из них 3 статьи в журналах, которые внесены в перечень

рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных результатов исследования.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 142 страницах машинописного текста и состоит из введения, главы собственных исследований, заключения, выводов, и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 29 таблицами и 24 рисунками. Список литературы содержит 193 источника.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эпидемиология РЖ

Рак желудка (РЖ) является пятым по частоте злокачественным новообразованием во всем мире с ожидаемой частотой возникновения 1,089,103 новых случаев (примерно 5,6% всех новых случаев) ежегодно [163]. По оценкам Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) и Global Cancer Observatory (GLOBOCAN) в 2020 году от рака желудка умерли 502,788 мужчин и 266,005 женщин [163]. Рак желудка встречается довольно редко и не распространен среди молодого населения (до 45 лет), где встречается не более 10% пациентов, страдающих местнораспространенной формой заболевания [109].

Ежегодно в Российской Федерации регистрируют около 32 тыс. новых случаев рака желудка и более 26,4 тыс. пациентов умирает от этого заболевания. Мужчины заболевают в 1,4 раза чаще женщин [2].

В последние годы уровень заболеваемости имеет тенденцию к снижению, однако рак желудка остается значимой причиной смертности от злокачественных новообразований, как в России, так и в некоторых странах мира. Прогноз больных с диагнозом рак желудка остается неблагоприятным, 5-летняя выживаемость усредненно на все стадии составляет 33%, а медиана общей выживаемости – менее 12 месяцев [158]. Аденокарцинома желудка как злокачественное новообразование высокой агрессивности, имеющее гетерогенную природу, представляет собой важную проблему здравоохранения [57]. Для правильной постановки диагноза мы используем различные классификации, описанные ниже.

1.2 Морфологические особенности РЖ

Для гистологической классификации РЖ применяется классификация Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), в которой выделяются такие основные подтипы как: папиллярный, тубулярный, муцинозный [117]. В 1965

году была создана классификация P. Laurén, в настоящее время именно она является наиболее часто используемой. По классификации Lauren выделено два гистологических подтипа рака желудка: кишечный (интестинальный) и диффузный. Позднее данная классификация была дополнена неопределённым подтипом. Многочисленные исследования показали, что наиболее распространённым является кишечный тип РЖ, далее по распространённости идут диффузный тип и неопределённый тип [89]. Кишечный тип рака желудка чаще развивается у пациентов, имеющих тяжелый атрофический гастрит, и ассоциирован с кишечной метаплазией, а также наличием устойчивой инфекции *H. pylori* [74,128]. Данный подтип чаще встречается у мужчин, в пожилом возрасте и характеризуется висцеральным метастазированием. Диффузный тип рака желудка ассоциирован с низкой дифференцировкой, резистентностью к лечению и плохим прогнозом. Диффузный подтип чаще встречается у женщин молодого возраста и характеризуется диссеминацией по брюшине [74,89].

По данным опроса экспертов на четвертой международной конференции St. Gallen, посвященной вопросам лечения операбельного рака желудка и пищевода в 2019 г., перстневидноклеточный диффузный гистологический подтип РЖ является независимым фактором неблагоприятного прогноза и должен рассматриваться как фактор стратификации в будущих исследованиях [98].

В исследовании MAGIC, хирургическое лечение сравнивалось с периоперационной химиотерапией, включавшей проведение 3 курсов по схеме ECF (эпирубицин, цисплатин, 5-фторурацил) до операции и 3 курса после операции. По результатам данного исследования назначение периоперационной химиотерапии привело к достоверному увеличению 5-летней выживаемости жизни больных с 23% до 36% (ОР 0,75; 95% ДИ 0,60-0,93; $p=0,009$) [43]. При проведении подгруппового анализа отсутствовали различия в частоте полного патоморфологического регресса при диффузном и кишечном подтипе рака желудка по Lauren.

В исследовании FLOT-4 оценивалась эффективность двух различных режимов периоперационной химиотерапии, в частности режима ECF/ECX

(эпирубицин, цисплатин, фторурацил или капецитабин) и FLOT (доцетаксел, оксалиплатин, лейковорин, фторурацил) [8]. Комбинация FLOT показала преимущество перед режимом ECF/ECX, достоверно улучшив 5-летнюю общую выживаемость с 48% до 57% (ОР 0,77; 95% ДИ 0,63-0,94; $p=0,012$). При подгрупповом анализе исследования было продемонстрировано, что эффективность режима FLOT выше, чем режима ECF/ECX независимо от гистологического подтипа, даже в подгруппе пертневидноклеточного рака желудка.

На основе исследования FLOT-4, периоперационная химиотерапия в режиме FLOT стала стандартом лечения в западных странах при лечении больных местнораспространенным РЖ. Однако только 62% пациентов отвечают на проведенное лечение, что делает важным отбор пациентов, которые могут получить пользу от химиотерапии. В нашей клинической практике мы также встречаемся со случаями отсутствия эффекта или прогрессирования заболевания при проведении периоперационной химиотерапии [1,3,4].

Вышеуказанные данные подчеркивают важность поиска маркёров, прогнозирующих эффективность от проведения периоперационной химиотерапии.

1.3 Молекулярно-генетическая классификация рака желудка

В последние годы активно развиваются классификации на основе молекулярных характеристик. С внедрением в клиническую и научную практику высокопроизводительных методов секвенирования нового поколения (NGS), методов секвенирования ДНК, РНК, анализа изменения числа копий (CNV) и метилирования ДНК стало возможно классифицировать РЖ на молекулярные подтипы, что может предоставлять более детализированную информацию об опухоли по сравнению с гистологическими характеристиками [86,112].

В последнее время с целью повышения эффективности терапии идет активный поиск молекулярных маркеров для определения эффективности

лекарственного лечения и прогноза течения заболевания. Одним из перспективных подходов является проведение молекулярно-генетического типирования аденокарцином желудка. На сегодняшний день не вызывает сомнений клиническая значимость выделения молекулярно-генетических подтипов для аденокарцином желудка. Однако основная задача состоит в том, чтобы адаптировать данную классификацию для рутинного клинического применения, определив «суррогатные маркеры» биологических подтипов.

Наиболее интересными работами по молекулярном типированию РЖ были исследование TCGA, опубликованное в 2014 году, и исследование ACRG (2015г.).

1.3.1 Исследование The Cancer Genome Atlas (TCGA)

В 2014 году группа TCGA опубликовала наиболее перспективное и полномасштабное исследование TCGA, которое также разделило РЖ на молекулярные подтипы [38]. Были проанализированы образцы опухолевой ткани у 295 пациентов с аденокарциномой желудка, которые ранее не получали химиотерапию и/или лучевую терапию. Использовались 6 платформ для анализа: секвенирование экзома, сравнительная геномная гибридизация, исследования метилирования ДНК, секвенирование матричной РНК и микроРНК, а также протеомный анализ. В результате исследования опухоли были классифицированы на 4 подтипа: EBV-ассоциированные опухоли (8,8%), опухоли с микросателлитной нестабильностью (MSI) (21,7%), опухоли со стабильным геномом (GS) (49,8%), а также опухоли с хромосомной нестабильностью (CIN) (19,8%). Данная работа важна тем, что позволила выделить молекулярно-биологические подтипы рака желудка, которые определили направления поиска новых терапевтических подходов в лечении. Каждый молекулярный подтип связан с различным прогнозом. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Ключевые характеристики молекулярных подтипов рака желудка по классификации TCGA и ACRG

Классификация TCGA			
EBV-ассоциированный тип (8,8%)	Микросателлитный нестабильный тип (21,7%)	Хромосомный нестабильный тип (19,7%)	Геном стабильный тип (49,8%)
- чаще наблюдается у мужчин - кишечный тип по Lauren - часто локализуется в проксимальном отделе и теле желудка - Амплификация JAK2 - мутация гена PIK3CA (80%), инактивирующая киназный домен (экзон 20) - Мутация гена ARID1A (55%) - Обогащение сигналов иммунных клеток	- чаще наблюдается у женщин - кишечный тип по Lauren - более пожилой возраст на момент установки диагноза - мутация в одном из различных генов системы репарации несоответствия ДНК (например, MLH1 или MSH2) - не хватает целенаправленных амплификаций	- чаще наблюдается у мужчин - кишечный тип по Lauren - часто локализуется в кардиоэзофагеальном переходе - амплификация RTK-RAS (EGFR, ERBB2, ERBB3, VEGFA, VEGFR2, MET, NRAS/KRAS, JAK2 и PIK3CA) - амплификация генов клеточного цикла - мутация гена TP53	- частота встречаемости у мужчин и женщин одинаковая - дистальное расположение опухоли - диффузный тип по Lauren - ранний возраст при постановке диагноза - рецидивирующая инактивация гена CDH1, мутация генов RHOA, ARID1A
Классификация ACRG			
MSS/TP53+ (26,3%)	MSI (22,7%)	MSS/TP53- (35,7%)	MSS/EMT (15,3%)
- часто EBV-положительный - промежуточный прогноз - аналогично подтипу EBV по классификации TCGA	- поражение дистальных отделов желудка - кишечный тип по Lauren - ранние стадии заболевания - благоприятный прогноз - гипермутация - отсутствие экспрессии MLH1 - аналогично подтипу MSI по классификации TCGA	- отсутствие активности TP53 - промежуточный прогноз - аналогично подтипу CIN по классификации TCGA	- диффузный тип по Lauren - локализация в теле желудка - более пожилой возраст на моменте установки диагноза - поздняя стадия на моменте установки диагноза - отсутствие экспрессии CDH1 - хуже прогноз - аналогично подтипу GS по классификации TCGA

1.3.2 Классификация Asian Cancer Research Group (ACRG)

В 2015 году авторы исследования ACRG изучили уровень мРНК в опухоли у 300 пациентов и разделили опухоли на 4 разные подгруппы, такие как MSI-ассоциированный тип (22,7% случаев), микросателлитно стабильный тип с эпителиально-мезенхимальным переходом (MSS/EMT, 15,3% случаев), микросателлитно стабильный/эпителиальный/TP53 активный тип (MSS/TP53+, 26,3% случаев) и микросателлитно стабильный/эпителиальный/TP53 неактивный (MSS/TP53-, 35,7% случаев) [42]. Наихудшая выживаемость наблюдалась при опухолях типа MSS/EMT, которые были определены на основе сигнатуры профиля экспрессии генов с сигнатурой EMT (эпителиально-мезенхимальный переход), данный тип опухоли имеет высокую частоту прогрессирования (63%), в то время как MSI-ассоциированный тип имеют наилучший прогноз и наименьшую частоту прогрессирования (22%). Как и ожидалось, более 80% опухолей типа MSS/EMT относились к диффузному гистологическому типу и проявлялись в более молодом возрасте, подобно молекулярному подтипу РЖ в исследовании TCGA. Каждый молекулярный подтип связан с различным прогнозом.

Несмотря на различные проанализированные когорты РЖ и разнообразие применяемых молекулярных подходов, исследования TCGA и ACRG смогли выделить подгруппу MSI как специфическую и четко определенную группу РЖ.

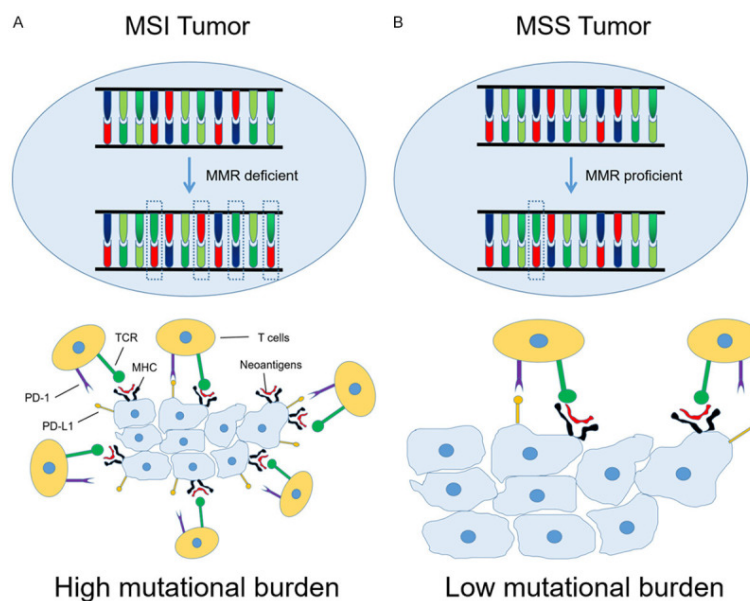
1.4 Молекулярные основы MSI при РЖ

На сегодняшний день известно, что микросателлитная нестабильность (microsatellite instability, MSI) — это независимый прогностический фактор, определяющий степень злокачественности новообразований различной локализации [75]. Микросателлиты — это последовательности ДНК с длиной от одного до шести повторений нуклеотидов (обычно от 10 до 60 раз). Эти участки ДНК разбросаны по кодирующим и некодирующим областям генома, высоко

полиморфны среди популяции, но стабильны у каждого человека [182]. Опухоли могут быть классифицированы как MSI и MSS [169].

Микросателлитная нестабильность (MSI) – это феномен, характерный для РЖ и ассоциированный с экспансией или сокращением микросателлитных последовательностей из-за ошибок репликации, наиболее часто вызванный мутациями в генах системы репарации ошибочно спаренных оснований (MMR) и генах опухолевых супрессоров [136]. Система репарации ошибочно спаренных оснований (MMR) состоит из нескольких белков, которые включают продукты генов hMLH1, hMLH2, hMLH6 и hPMS2, отвечающих за наблюдение за правильной репликацией ДНК. Система MMR нацелена на исправление ошибок репликации (например, несоответствие базовых данных, вставки и удаления) при обнаружении [52,63,186]. При наличии дефектной системы репарации непаренных оснований (dMMR) ошибки репликации ДНК остаются незамеченными и не устраняются, что приводит к появлению высокой мутационной нагрузке в опухоли. Гетеродимерные белковые комплексы hMSH2/hMSH6 и hMSH2/hMSH3 отвечают за первоначальное обнаружение ошибок репликации. Последующее привлечение комплекса, образованного hMLH1 и hPMS2, удаляет несовпадающий нуклеотид или фрагмент и позволяет повторно осуществить синтезирование ДНК. Инактивация белков MMR может быть вызвана мутациями в кодирующей области, метилированием промотора или хромосомными перестройками, которые приводят к потере гетерозиготности [40,93,186]. Гипермутированные раковые клетки продуцируют несколько неоантигенов, которые стимулируют активацию Т-клеток и инфильтрацию опухоли иммунными клетками. Чтобы противодействовать этому активному иммунному ответу, опухолевая клетка подвергается воздействию рецептора контрольных молекул, например, PD-1 для подавления противоопухолевой активности. При наличии системы репарации неспаренных оснований ошибки репликации происходят редко с более низкой частотой мутаций и как следствие, ограниченной продукцией неоантигенов. По этой причине в опухоли с MSS-статусом уровень инфильтрации Т-клетками и экспрессии контрольных молекул невелик. Считается, что специфическое

иммунное микроокружение опухолей с MSI статусом объясняет, почему они являются идеальной мишенью для терапии ингибиторами иммунных контрольных точек (Рисунок 1) [141].



А. Опухоли с MSI-статусом имеют высокую мутационную нагрузку с большим количеством Т-клеток, инфильтрирующих опухолевую ткань, Б. Опухоли с MSS-статусом часто демонстрируют низкую мутационную нагрузку и характеризуются низкой степенью инфильтрации лимфоцитами

Рисунок 1 – Иммунное микроокружение опухолей с MSI и MSS-статусом

Пациенты с мутациями гена MSH6, по-видимому, особенно подвержены риску развития рака желудочно-кишечного тракта и эндометрия, тогда как носители мутации гена MSH2 имеют самый высокий риск развития рака по всему спектру, особенно рака мочевыводящих путей [171]. В спорадических условиях более 50% РЖ с MSI-статусом содержат эпигенетическое гиперметилирование промотора hMLH1, тогда как мутации в hMLH1 и hMSH2 были зарегистрированы у 12-15% пациентов этой подгруппы РЖ [124]. Предполагается, что инактивация экспрессии генов альтернативными неизвестными генетическими или эпигенетическими изменениями ответственна за все оставшиеся случаи микросателлитной нестабильной РЖ [124]. Функциональная потеря белков MMR приводит к сильно мутированному фенотипу с большим количеством сдвигов

рамки считывания и миссенс-мутаций в ключевых онкогенах и генах-супрессорах опухолей. Мутации в генах, ответственных за регуляцию клеточного цикла и апоптоз (например, TGF β RII, IGFIIR, TCF4, RIZ, BAX, CASPASE5, FAS, BCL10 и APAF1) или за поддержание целостности генома (например, hMSH6, hMSH3, MED1, RAD50, BLM, ATR и MRE11), также были связаны с MSI-статусом при РЖ [69]. Более того, повышенная экспрессия компонентов митотических путей, таких как AURKA A/B, E2F, FOXM1, PLK1 и мишени активации MYC, была описана и подтверждена на транскриптомном уровне в MSI опухолях [38]. Действительно, инактивация генов MMR сама по себе не является трансформирующим событием, и для определения прогрессирования опухоли необходимы дополнительные генетические изменения. Хорошо известно, что опухоли с MSI-статусом характеризуются увеличением частоты мутаций в 100-1000 раз по сравнению с микросателлитно-стабильными опухолями (MSS) [40,48,69]. Повторяющиеся последовательности микросателлитов особенно подвержены ошибкам репликации, и поэтому они могут быть использованы в качестве маркера интактной или дефектной системы MMR [69].

Соматические инактивирующие мутации в гене ARID1A, кодирующем белок 1A, содержащий интерактивный домен AT-rich, последовательно идентифицируются с более частыми мутациями в MSI, чем в опухолях MSS [38,178,187]. Спектр мутаций гена ARID1A также различается между подтипами рака желудка, и в то время, как подавляющее большинство мутаций при MSI являются сдвигом рамки из-за вставок или делеций (indels), включающих короткие мононуклеотидные повторы, в опухолях с MSS-статусом мутации являются как indels, так и однонуклеотидными вариациями. Высокая частота мутаций ARID1A согласуется с тем, что механизм MSI нацелен на ген-драйвер, поскольку она была в 12-61 раз выше, чем глобальная фоновая частота мутаций соматических инделов в мононуклеотидных трактах аналогичной длины в опухолях MSI [178]. Сниженная или отсутствующая экспрессия белка ARID1A наблюдается в большинстве образцов с мутацией ARID1A, и потеря экспрессии ARID1A чаще встречается в опухолях с MSI, чем в опухолях с MSS-статусом

[6,178,187]. Следует отметить, что при опухолях с MSI-статусом с мутировавшим или диким типом гена ARID1A не наблюдается существенных различий в безрецидивной или общей выживаемости, в то время как в опухолях с MSS потеря экспрессии ARID1A значительно коррелирует с худшей безрецидивной и общей выживаемостью [6]. При опухолях с MSI-статусом мутации в ARID1A в значительной степени связаны с активацией мутаций PIK3CA, но не с мутациями TP53, что позволяет предположить, что мутации ARID1A и TP53 приводят к альтернативным типам рака желудка [178].

В опухолях с MSI-статусом мутации, активирующие PIK3CA, встречаются и в основном локализованы в киназном и спиральном доменах, и это может представлять собой мишень для ингибиторов PI3K [38].

Примечательно, что в исследовании TCGA анализ генов, мутировавших в опухолях с MSI-статусом, часто выявлялись изменения в основных генах комплекса гистосовместимости I класса, включая HLA-B и B2M [38]. Мутации, влияющие на инактивацию B2M и HLA, ассоциированы с фенотипом MSI при раке желудка [68]. При колоректальном раке дефицит β 2-микроглобулина снижает презентацию антигена и генерирует фенотипы опухоли, которые способны ускользать от иммунного надзора [23].

При раке желудка другие гены в дополнение к MLH1 также могут быть подавлены гиперметилированием промотора, включая гены, участвующие в репарации ДНК (такие как MGMT), межклеточных взаимодействиях и взаимодействии клетка–матрица (таких как CDH1 и TIMP3), регуляции клеточного цикла (CDKN2A/P16INK4A), и регуляции транскрипции (RUNX3) [139].

Часто опухоли с MSI-H-статусом демонстрируют одновременное гиперметилирование в нескольких локусах, и это было названо фенотипом метилирования CpG-островков (CIMP). Существуют разногласия относительно полного совпадения между MSI-статусом и CIMP при раке желудка [92,110,192]. Общегеномная характеристика событий метилирования ДНК, связанных с раком желудка, выявила подгруппу опухолей, характеризующихся CIMP, которая была

связана с широко распространенным гиперметилованием, молодым возрастом пациента и неблагоприятным исходом независимо от стадии заболевания [192]. Интересно, что также было отмечено, что клеточные линии с CIMP были чувствительны к обработке 5-Аза-2'-дезоксцитидином, ингибитором метилирования ДНК. Это говорит о том, что фармацевтические вмешательства с использованием деметилирующих препаратов в отношении рака желудка CIMP могут быть возможными.

1.5 Частота выявления микросателлитной нестабильности при РЖ

Частота выявления микросателлитной нестабильности в опухоли среди пациентов РЖ составляет по различным данным от 5,56% по 23,5%. Подробные данные предоставлены в таблице 2.

По данным мета-анализа больные РЖ с MSI статусом имеют хороший прогноз при локализованных опухолях, при этом частота dMMR/MSI при раке I-III стадий, как правило, выше, чем при IV стадии заболевания [136]. Мы проанализировали исследование Checkmate-649, Keynote-06 и исследование Middha и соавт. [56, 72, 108], в которых в анализ вошли только первично диссеминированные пациенты, не получившие хирургического лечения. Частота выявления MSI-статуса при диссеминированном раке желудка составила 5,27% (111 из 2104 пациентов).

Таблица 2 – Частота выявления больных раком желудка с MSI-статусом в различных исследованиях

Авторы	Год публикации	Характеристика группы пациентов	Количество пациентов	Количество и частота пациентов с MSI (%)	Количество пациентов со стадией M1	MSI-статус при стадии M1 (%)
Beghelli и соавт. [21]	2006	Резектабельный РЖ	510	83 (16,27%)	58	6 (10,34%)
An и соавт. [12]	2012	Резектабельный РЖ	1990	170 (8,54%)	0	0
Kim и соавт. [78]	2013	Резектабельный РЖ	414	23 (5,56%)	0	0
TCGA [38]	2014	РЖ всех стадий	295	64 (21,69%)	20	2 (10%)
ACRG [42]	2015	Резектабельный РЖ	300	68 (22,67%)	27	1 (3,7%)
Вае и соавт. [16]	2015	Резектабельный РЖ	2959	203 (6,86%)	0	0
Marrelli и соавт. [103]	2015	Резектабельный РЖ	472	111 (23,51%)	86	9 (10,46%)
Kim и соавт. [80]	2015	II-III стадия РЖ	1276	105 (8,2%)	0	0
Smyth и соавт. [159]	2017	Резектабельный РЖ	303	20 (6,6%)	0	0
Middha и соавт. [108]	2017	Метастатический РЖ	282	7 (2,48%)	282	7 (2,48%)
Fuchs и соавт. [55]	2018	Метастатический РЖ	174	7 (4%)	174	7 (4%)
Polom и соавт. [135]	2018	Метастатический РЖ	176	14 (7,95%)	176	14 (7,95%)
Choi и соавт. [36]	2019	Резектабельный РЖ	592	40 (6,76%)	0	0

Продолжение таблицы 2

Нааg и соавт. [62]	2019	Резектабельный РЖ	101	9 (8,91%)	0	0
Hashimoto и соавт. [65]	2019	Резектабельный РЖ	285	24 (8,42%)	0	0
Kohlruss и соавт. [84]	2019	Резектабельный РЖ	617	59 (9,56%)	0	0
Checkmate-649 [72]	2021	Метастатический РЖ	881	34 (3,86%)	881	34 (3,86%)
Keynote-061 [56]	2022	Метастатический РЖ	400	31 (7,75%)	400	31 (7,75%)
Суммарно			12027	1072 (8,91%)	2104	111 (5,27%)

1.6 Методы определения микросателлитной нестабильности

Растущие знания о прогностической роли MSI-статуса по сравнению с MSS-статусом при нескольких подтипах рака привели к увеличению числа пациентов, регулярно проходящих тестирование на наличие этого молекулярного признака. Для точного определения статуса MSI и последующего принятия терапевтического решения необходимы чувствительные, быстрые и точные методы. В настоящее время для выявления статуса MSI используется несколько различных методов, описание которых представлено в таблице 3.

Таблица 3 – Описание методов определения статуса MSI

Методы	Характеристики	Диагностические маркёры	Чувствительность	Авторы
ИГХ	Широкое применение и высокая практичность, но можно оценить только dMMR	4 антитела: hMLH1, hPMS2, hMSH2, hMSH6	89–95%	Cheah и соавт. [31]
ПЦР	Определение только статуса MSI. Система анализа MSI основана на этом методе	5 маркеров: BAT-26, NR-21, BAT-25, NR-27 и NR-24	Золотой стандарт, 100%	Arulananda и соавт. [15]
NGS	Определение изменений в генах, связанных с MMR, и мутационной нагрузки опухоли (TMB)	около 100 микросателлитных локусов	IMPACT: 92% F1CDX: 94,6%	Hempelman и соавт. [67]
smMIPs	Точное и не требующее сопоставления с нормами исследование, но применимо только для некоторых заболеваний: колоректального рака, рака предстательной железы, рака эндометрия	ДНК из опухолевой ткани	95,80%	Waalkes и соавт. [174]

NGS - Секвенирование нового поколения; ПЦР - полимеразная цепная реакция; ИГХ - иммуногистохимия; smMIPs - одномолекулярные молекулярные инверсионные пробы

1.6.1 Иммуногистохимия

Обнаружение делеции генов MMR может косвенно отражать статус MSI. Иммуногистохимия (ИГХ) используется для определения экспрессии белков MMR, в частности hMLH1, hPMS2, hMSH2 и hMSH6 [31].

Для выполнения ИГХ-исследования необходимо оценивать экспрессию четырёх белков системы репарации ошибочно спаренных оснований для оценки статуса dMMR при любом спорадическом типе рака, встречающихся при синдроме Линча (колоректальный рак, рак эндометрия, опухоль тонкой кишки, центральной нервной системы (глиомы/глиобластомы) и сальных желёз).

Метод ИГХ основан на том факте, что белки системы MMR повсеместно экспрессируются в ядрах клеток. Большинство мутаций в генах системы MMR препятствуют димеризации, что приводит к протеолитической деградации гетеродимеров и последующей потере как облигатных, так и вторичных белков. Таким образом, мутации в гене MLH1 связаны с потерей экспрессии как белка MLH1, так и белка PMS2, тогда как мутации в гене MSH2 связаны с потерей экспрессии белков MSH2 и MSH6.

Наоборот, когда происходят мутации в генах вторичных белков (т.е. PMS2 и MSH6), гетеродимеры могут оставаться стабильными и не происходит одновременной потери обязательных белков-партнеров. Это связано с тем, что функция вторичных белков может компенсироваться другими белками, такими как MSH3 вместо MSH6 и MLH3 или PMS1 вместо PMS2 [42]. Следовательно, антитела к PMS2 выявляют все случаи, при которых присутствуют аномалии белков MLH1 или PMS2, а антитело MSH6 выявляет все случаи, в которых присутствует аномалия белка MSH2 или MSH6.

Одним из недостатков ИГХ является то, что по техническим или биологическим причинам он может давать как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты иммуноокрашивания, не отражающие реальное состояние механизма MMR. Технические факторы, которые могут привести к ложноотрицательным результатам иммуноокрашивания, в основном связаны с

преаналитическими проблемами, такими как фиксация тканей [51]. Также могут наблюдаться аберрантные модели окрашивания, включая цитоплазматическое, точечное или перинуклеарное окрашивание [154]. Наличие внутреннего положительного контроля, такого как нормальная слизистая оболочка, лимфоциты или стромальные клетки, является обязательным для интерпретации результатов. К биологическим причинам, ответственным за ложноположительные результаты иммуноокрашивания, которые не отражают фактическую недостаточность механизма MMR, относятся миссенс-мутации в любом гене системы репарации ошибочно спаренных нуклеотидов, приводящие к образованию мутантных первичных белков, которые каталитически неактивны, но антигенно интактны [154]. Биологические причины положительного иммуноокрашивания, которые могут быть связаны либо с функциональной, либо с дефектной активностью системы MMR, зависят от отсутствия белков PMS2 или MSH6, которые заменены другим вторичным белком (MSH3 заменяет MSH6, MLH3 или PMS1 заменяет PMS2). Именно из-за этого рекомендуется использовать все четыре антитела одновременно или использовать ПЦР-метод, когда возникают какие-либо сомнения в результатах ИГХ-исследования. Подход скрининга двух антител с PMS2/MSH6 можно рассматривать как экономически эффективную альтернативу при условии, что в случае отрицательного, фокального/пятнистого или слабого иммуноокрашивания, особенно для MSH6 [129], для подтверждения также проводится ИГХ-исследование с MLH1 и/или MSH2. Фактически, использование последних двух антител служит либо для подтверждения дефицита системы MMR (если обнаружено отсутствие соответствующего белка-партнера), либо для определения необходимости проведения ПЦР-тестирования в случае отсутствия только одного члена субъединицы гетеродимера. Изолированное отсутствие экспрессии белка PMS2 обнаруживается в 4% опухолей с MSI-статусом [11], а случаи с одиночной потерей экспрессии белков PMS2 или MSH6 могут нести соматические варианты этих генов [161]. Опять же, все эти наблюдения подтверждают то, что необходимо использовать все четыре белка системы MMR. Решение о том, проводить ли

тестирование всех четырех антител одновременно или последовательно, т.е. с использованием скрининга двух антител с последующей рефлекторной ИГХ для соответствующего белка-партнера, остается на усмотрение местной организации, сроков и стоимости исследования.

ИГХ-исследование может быть проведено на биопсийном или операционном материале. Основными преимуществами выполнения ИГХ на биопсийном материале являются лучшая степень фиксации биоптатов, чем у послеоперационного материала, полезность знания статуса MSI до начала лечения, особенно у больных с диссеминированным опухолевым процессом. К преимуществам использования послеоперационного материала относятся возможность анализа большего количества клеток, возможность выбрать лучший образец для ИГХ-исследования, наличие тканевого материала для внутреннего контроля (например, нормальной слизистой оболочки, воспалительных клеток), возможность преодолеть гетерогенность опухоли (особенно при экспрессии MSH6) за счет анализа большего количества ткани, а также в рамках специфической иммунотерапии возможность также надёжно выполнить ИГХ-исследование для оценки экспрессии PD-1 и PD-L1 на одном и том же материале.

1.6.2 Флуоресцентная мультиплексная ПЦР

Молекулярное тестирование ПЦР на определение статуса MSI показано в случае неопределенных результатов ИГХ-исследования, включая разногласия или трудности в интерпретации ИГХ, или в случае потери только одной субъединицы гетеродимера (например, только MLH1 или только PMS2, а не обоих). Традиционный молекулярный тест основан на ПЦР-амплификации микросателлитных маркеров с двумя возможными панелями: одна с использованием пяти микросателлитов, содержащих два моонуклеотидных (BAT-25 и BAT-26) и три динуклеотидных (D5S346, D2S123 и D17S250) повтора, а другая с использованием пяти поли-А-моонуклеотидных повторов (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, NR-27) [40,116]. Наличие нестабильности по двум и

более из исследуемых маркеров оценивалось как высоко генетически нестабильный фенотип опухоли (MSI).

Проведение ПЦР-тестирования для оценки dMMR показано при любом спорадическом типе рака, встречающихся при синдроме Линча (колоректальный рак, рак эндометрия, опухоль тонкой кишки, центральной нервной системы (глиомы/глиобластомы) и сальных желёз). Для достижения высокой специфичности и чувствительности, а также для обеспечения воспроизводимости и стандартизации между различными лабораториями Национальный институт рака рекомендует так называемую панель Bethesda в качестве ориентира для диагностического тестирования [116]. Эта панель состоит из пяти микросателлитных маркеров, специфичных для двух моноклеотидных локусов (BAT-25 и BAT-26) и трех динуклеотидных локусов (D2S123, D5S346 и D17S250) [40,116]. MSI-статус определяется тогда, когда два или более моноклеотидных маркера демонстрируют изменение длины повторов [146,169]. Однако альтернативная панель с пятью поли-А-моноклеотидными повторами (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, NR-27) считается текущим стандартом из-за её более высокой специфичности и чувствительности [60].

ПЦР-тестирование является наиболее специфичной и чувствительной методикой при определении статуса MSI [60,164]. Если только динуклеотидные повторы изменены, следует протестировать вторичную панель с моноклеотидными повторами (например, BAT40) [169]. Пентаплексная панель из пяти поли-А-моноклеотидных повторов может устранить необходимость сравнения нормальной ткани и быть более чувствительной, чем другие микросателлитные маркеры [60,164,169]. От терминов MSI high или MSI-low следует отказаться, а опухоли с низким MSI следует включить в микросателлитно-стабильные опухоли, как это предложено в пересмотренных рекомендациях Bethesda по колоректальному раку [66,82,169] и подтверждено последующими исследованиями [66,82].

1.6.3 Метод NGS (Next generation sequencing)

В 2017 году реактивы Memorial Sloan Kettering (MSK) Integrated Mutation Profiling Of Actionable Cancer Targets (IMPACT) были одобрены для определения статуса микросателлитной нестабильности в опухолевой ткани. По сравнению с традиционными методами, однородность результатов проверки воздействия может достигать более 92% [34]. В 2018г. продукт FMI NGS FoundationOne CDx (F1CDX) был одобрен и также может использоваться для выявления статуса MSI.

Секвенирование нового поколения (NGS) представляет собой альтернативный молекулярный тест для оценки MSI-статуса [66,120]. Одним из основных преимуществ этой методики является возможность совместить анализ MSI с определением мутационной нагрузки опухоли. NGS обеспечивает параллельное высокопроизводительное секвенирование большого количества микросателлитов и генов и, таким образом, может также идентифицировать другие целевые изменения, подходящие для лечения, отличного от иммунотерапии, например мутации гена KRAS при колоректальном раке, гена EGFR при немелкоклеточном раке легких (НМРЛ), мутации гена BRAF при меланоме, мутации генов BRCA1 и BRCA2 при раке молочной железы и яичников. Тестирование MSI на основе NGS потенциально может стать методом выбора для всех типов опухолей, включая редкие виды рака, не принадлежащие к спектру синдрома Линча.

NGS-секвенирование следует проводить только в определённых центрах, имеющих опыт применения этой методики. В будущем, NGS-секвенирование большого набора микросателлитов, отличных от моонуклеотидных повторов, т.е. включающих от двух до шести оснований и/или составных микросателлитов, может помочь в открытии механизмов нарушений репарации ДНК, выходящих за пределы наших текущих знаний о дефиците системы репараций неспаренных оснований.

1.7 Прогностическая и предиктивная роль MSI-статуса при РЖ

За последние годы, многие исследователи оценили клиническую значимость статуса MSI как маркера благоприятного прогноза для пациентов РЖ [132,137]. Cristescu и соавт. оценили результаты выживаемости пациентов с различными молекулярными подтипами РЖ по классификации ACRG, выявленных в их исследовании, объединив данные из независимых когорт. Подтип MSI характеризовался наиболее высокими показателями ОВ как в группе пациентов только с хирургическим лечением, так и при комбинированном лечении ($p < 0,001$) [42]. Также, по результатам мета-анализа, включающего 48 исследований, Polom и соавт. показали, что больные РЖ с MSI-статусом, получавшие только хирургическое лечение, имели лучшую ОВ по сравнению с пациентами с MSS-статусом [136]. Схожее влияние MSI-статуса у пациентов после радикальной операции было также показано в нескольких рандомизированных исследованиях [36,47,107].

Во многих исследованиях изучали прогностическую роль статуса MSI при проведении химиотерапии [160,170]. Оказалось, что при проведении адъювантной химиотерапии прогноз пациентов РЖ с MSI-статусом хуже, чем у пациентов с MSS-статусом. Впервые данный феномен был зарегистрирован по результатам ретроспективного исследования [162]. Также, в крупномасштабном исследовании с участием 1990 больных РЖ оценивалось, помогает ли адъювантная химиотерапия на основе 5-фторурацила после R0-резекции опухоли с учетом статусом MSI [12]. У пациентов с MSI-статусом, получавших адъювантную химиотерапию, не наблюдалось никаких преимуществ по показателям БРВ по сравнению с группой пациентов с MSS-статусом. В соответствии с этими результатами, исследование CLASSIC продемонстрировало, что адъювантная химиотерапия не оказала существенного влияния на улучшение выживаемости в группе пациентов РЖ с MSI статусом [36]. Kim и соавторы, проанализировав данные 1276 больных РЖ, показали, что пациенты с MSI-статусом и III стадией заболевания, получившие только хирургическое лечение, имели более высокую

общую выживаемость по сравнению с группой пациентов с MSS-статусом, получавших хирургическое и химиотерапевтическое лечение [80]. Про негативное прогностическое значение статуса MSI при назначении химиотерапии сообщалось в исследовании MAGIC, в которое были включены пациенты с резектабельным РЖ для оценки эффективности периоперационной химиотерапии [159]. Действительно, пациенты со статусом MSI, получавшие только хирургическое вмешательство, имели лучшую выживаемость по сравнению с группой больных, получивших комбинированное лечение (ОР 0,35; 95% ДИ 0,11-1,11; $p=0,08$). Из-за низкой частоты выявления MSI-статуса, в метаанализе MSI-GC-01 был проведен объединенный анализ исследований MAGIC и CLASSIC в зависимости от статуса микросателлитной нестабильности в опухоли [36,132,159]. Показано, что проведение химиотерапии в группе больных с MSI-статусом не улучшает показатели выживаемости пациентов. По сравнению с группой пациентов с MSS-статусом, пациенты с MSI-статусом имели более высокие показатели 5-летней БРВ (71,8% (95% ДИ: 63,8-80,7%) по сравнению с 52,3% (49,6-55,0%) (ОР 0,50; 95% ДИ 0,35-0,72; $p < 0,001$)) и 5-летней ОБ - 77,4% по сравнению с 59,2% (ОР 0,50; 95% ДИ 0,34-0,74; $p < 0,001$). Пациенты, имеющие статус MSI-L или MSS, получили преимущество в выживаемости от проведения химиотерапии в дополнение к хирургическому вмешательству, в то время как пациенты РЖ с MSI-статусом, не имели таких же преимуществ.

Хотя положительное прогностическое значение MSI при РЖ согласуется между исследованиями, доказательства того, что MSI является негативным предиктором эффективности адъювантной или неоадъювантной химиотерапии, остаются сомнительными из-за малого числа пациентов с MSI-статусом в каждом отдельном исследовании, а также принимая во внимание ретроспективный характер обсуждаемых исследований. В настоящее время статус MSI-H следует оценивать совместно с другими прогностическими факторами, чтобы должным образом адаптировать принятие решения о лечении на ранней стадии заболевания. Анализ подгрупп исследований по таксансодержащей неоадъювантной химиотерапии, таких как JACCRO GC-07 и FLOT-4,

относительно исходов больных РЖ с MSI-статусом был бы полезен для того, чтобы сделать вывод о том, что этим пациентам, возможно, не нужна химиотерапия и их лучше лечить адъювантной или неоадъювантной иммунотерапией или даже только хирургическим лечением [8,185]. По данным опроса экспертов на 4-ой международной конференции St. Gallen, посвященной вопросам лечения операбельного рака желудка и пищевода в 2019 г., многие эксперты сходятся во мнении, что у пациентов с резектабельным раком желудка с MSI-статусом отсутствует выигрыш от проведения химиотерапии [98]. Возможно, у данной категории больных следует отказаться от проведения лекарственного лечения в пользу только хирургического лечения.

В таблице 4 представлены данные различных исследований, в которых изучалась прогностическая ценность MSI-статуса у больных РЖ. В целом, учитывая противоречивые данные, небольшое количество пациентов с MSI-статусом в каждом индивидуальном исследовании и ретроспективный характер данных в этих исследованиях, трудно сделать определенные выводы о связи между MSI-статусом и эффективностью комбинированного лечения. Необходимы дальнейшие исследования в этом направлении.

Таблица 4 – Оценка влияния MSI-статуса на результаты различных методик лечения

Публикация	Исследуемая группа	Количество пациентов с MSI статусом	Лечение	Результаты
Oh и соавт. [121]	pT1N1 РЖ	100	Хирургическое/ хирургическое+ адьювантная ХТ	MSI не является прогностическим фактором в данной группе
Kim и соавт. [80]	II и III стадия РЖ	105	Хирургическое/ хирургическое+ адьювантная ХТ	При MSI-статусе лучше выживаемость у больных РЖ, получивших только хирургическое лечение; хуже прогноз при назначении химиотерапии
Smyth и соавт. [159]	резектабельный РЖ	20	Хирургическое/ хирургическое+ периоперационная ХТ	При MSI-статусе лучше выживаемость у больных РЖ, получивших только хирургическое лечение; хуже прогноз при назначении химиотерапии
Oki и соавт. [122]	резектабельный РЖ	22	Хирургическое/ хирургическое+ адьювантная ХТ	MSI-статус не является прогностическим фактором в данной группе
An и соавт. [12]	резектабельный РЖ	170	Хирургическое/ хирургическое+ адьювантная ХТ с 5-фу	MSI-статус не является прогностическим фактором в данной группе
Marrelli и соавт. [103]	Первичный пациенты РЖ	111	хирургическое	При MSI-статусе лучше выживаемость при кишечном подтипе РЖ
Choi и соавт. [36]	резектабельный РЖ	40	Хирургическое/ хирургическое+ адьювантная ХТ	При MSI-статусе лучше выживаемость при РЖ II-III стадии; хуже прогноз при назначении химиотерапии

Продолжение таблицы 4

Hashimoto и соавт. [65]	резектабельный РЖ	24	Хирургическое/ хирургическое+ периоперационная ХТ	При MSI-статусе хуже прогноз при назначении периоперационной химиотерапии
Pietrantonio и соавт. [132]	Мета-анализ исследований MAGIC, CLASSIC, ARTIST, ITACA-S	121	Хирургическое/ хирургическое+ХТ	При MSI-статусе лучше выживаемость у больных, получивших только хирургическое лечение; хуже прогноз при назначении периоперационной химиотерапии
Naag и соавт. [62]	резектабельный РЖ	9	Хирургическое/ хирургическое+ периоперационная ХТ	При MSI-статусе лучше ОВ при РЖ; не влияет на БРВ или при назначении периоперационной химиотерапии
Vos и соавт. [173]	РЖ, получившие периоперационную ХТ	82	Хирургическое/ хирургическое+ периоперационная ХТ	При MSI-статусе лучше ОВ, несмотря на худший ответ на химиотерапию
Nappo и соавт. [118]	РЖ, получившие периоперационную ХТ по схеме FLOT	27	Хирургическое/ хирургическое+ периоперационная ХТ FLOT	Несмотря на более низкий ответ на ХТ по схеме FLOT, пациенты с MSI-статусом имели более высокие отдалённые результаты

1.8 Биомаркеры иммунных контрольных точек у больных РЖ

Использование биомаркеров позволяет более селективно отбирать пациентов на проведение терапии ингибиторами иммунных контрольных точек, тем самым снижая затраты лечение и токсичности от терапии у той группы пациентов, у кого ожидаемая эффективность от терапии расценивается как низкая.

1.8.1 Экспрессия PD-L1

Экспрессия PD-L1 является наиболее широко изученным биомаркером для отбора пациентов для терапии антагонистами сигнального пути PD-1/PD-L1. О предиктивности экспрессии PD-L1 в качестве биомаркера сообщалось в различных крупных клинических испытаниях, в которых оценивались ингибиторы PD-1 и/или PD-L1 при меланоме, немелкоклеточном раке легкого и рак простаты [142,147,166]. В этих исследованиях были обнаружены более высокие уровни экспрессии PD-L1, что ассоциировалось с хорошим ответом на терапию ингибиторами PD-1 и/или PD-L1. Однако для других типов рака, включая почечно-клеточный рак, рак эндометрия и гепатоцеллюлярный рак экспрессия PD-L1 не показала предиктивной значимости [50,113].

У больных РЖ в 25-65% случаев в опухоли выявляется экспрессия PD-L1, и с усилением регуляции PD-L1 связано множество механизмов, включая амплификацию гена PDL1, структурные вариации 3'UTR в PDL1, полиморфизмы в промоторе PDL1, активацию онкогенной передачи сигналов PI3K и опосредованную цитокинами и хемокинами регуляцию [85,188]. Экспрессия PD-L1 при РЖ связана с высокой плотностью лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, с MSI-H-статусом и ВЭБ-инфекцией [24,76].

Корреляция между экспрессией PD-L1 и прогнозом при РЖ неоднозначна. В некоторых исследованиях сообщалось о взаимосвязи высокой экспрессии PD-L1 и неблагоприятным прогнозом, при этом есть исследования, показавшие, что

экспрессия PD-L1 может оказывать положительное влияние на выживаемость [24,29,76]. Однако, важно отметить, что существуют серьезные проблемы, связанные со сравнениями между исследованиями, а именно использование различных антител, анализов или устройств для ИГХ-исследования PD-L1 экспрессии, а также различные критерии оценки.

Исследования, в которых изучали эффективность пембролизумаба у больных РЖ, показали эффективность этого ингибитора иммунной контрольной точки при PD-L1-положительных опухолях с использованием анализа PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, который оценивает экспрессию PD-L1 в опухолевых клетках, лимфоцитах и макрофагах (CPS, Combined Positive Score) [55,156,157,168]. В исследовании KEYNOTE-59, частота объективного ответа и медиана продолжительности ответа у пациентов с PD-L1-положительными опухолями составили 22,7% и 8,1 месяца соответственно, что было значительно выше, чем у пациентов с PD-L1-отрицательными опухолями (8,6% и 6,9 месяца соответственно) [55]. В исследовании KEYNOTE-061 у пациентов с опухолями, где экспрессия PD-L1 (CPS) была ≥ 1 , частота объективного ответа у пациентов, получавших пембролизумаб, по сравнению с терапией паклитакселом составила 16% и 14% соответственно, но при анализе подгрупп частота объективного ответа составила 25% и 9% в группе больных с уровнем экспрессии PD-L1 CPS ≥ 10 , а в группе больных с уровнем экспрессии PD-L1 CPS < 1 составила 2% по сравнению с 10% [156]. В исследовании KEYNOTE-062 у пациентов, получавших пембролизумаб, медиана ОБ составила 10,6 месяцев у пациентов с уровнем экспрессии PD-L1 CPS ≥ 1 , а у пациентов с опухолями PD-L1 CPS ≥ 10 наблюдалась более высокая медиана ОБ, равная 17,4 месяцам, хотя различия не были статистически значимы [157].

В 2021 году, чтобы лучше определить специфичность CPS как предиктора клинического исхода, Wainberg и соавт. всесторонне изучили эффективность пембролизумаба у пациентов с экспрессией PD-L1 CPS ≥ 10 в 3 исследованиях, упомянутых выше [175]. В исследовании KEYNOTE-059 (медиана наблюдения 6 месяцев) медиана ОБ составила 8 месяцев, частота объективного ответа - 17%, а

медиана продолжительности ответа составила 21 месяц [18]. В исследовании KEYNOTE-061 (медиана наблюдения 9 месяцев) медиана ОВ (пембролизумаб против химиотерапии) составила 10 месяцев по сравнению с 8 месяцами, медиана БРВ в обеих группах составила 3 месяца, ЧОО составила 25% и 9% соответственно ($p<0,05$), а медиана продолжительного ответа не была достигнута в группе пациентов, получивших пембролизумаб, по сравнению с 7 месяцами в группе пациентов, получивших химиотерапию [56]. В исследовании KEYNOTE-062 (медиана наблюдения - 11 месяцев) медиана ОВ составила 17 и 11 месяцев (пембролизумаб по сравнению с химиотерапией), медиана БРВ составила 3 и 6 месяцев соответственно, ЧОО составила 25% и 38% соответственно, а медиана продолжительного ответа составила 19 месяцев и 7 месяцев соответственно [157]. Это показывает, что более благоприятные клинические исходы последовательно наблюдаются при первой, второй и третьей линиях терапии пембролизумабом у пациентов с экспрессией PD-L1 CPS ≥ 10 , и позволяет предположить, что экспрессия PD-L1 может быть использована для выявления пациентов, которым будет полезна терапия, направленная на PD-1/ PD-L1.

1.8.2 Микросателлитная нестабильность

По данным литературы, примерно от 5,56% до 23,5% опухолей желудка имеют фенотип MSI [78,95]. Пациенты РЖ с MSI-статусом имеют лучший прогноз, чем пациенты с MSS-статусом [39,104,136]. У пациентов с MSI-статусом опухоли были выявлены клиничко-морфологические особенности, которые ассоциированы с пожилым возрастом, женским полом и наличием кишечного типа опухоли по классификации Lauren [39,93]. В мета-анализе, включавшем 48 исследований и 18 612 пациентов, из которых у 9,2% были опухоли с высоким уровнем микросателлитной нестабильности (MSI), была подтверждена взаимосвязь между MSI-статусом опухоли и вышеуказанными клиничко-морфологическими признаками, а также с такими факторами, как отсутствие метастазов в лимфатических узлах и I-II стадиями заболевания.

MSI-статус и дефицит системы репарации неспаренных оснований ДНК в опухолевых клетках может привести к более высокому уровню мутаций и появлению иммуногенных неоантигенов, что облегчает распознавание иммунными клетками. Это может способствовать действию ингибиторов иммунных контрольных точек, поскольку эти типы опухолей характеризуются высокой плотностью иммунных клеток. Соответственно, по сравнению с MSS-опухолями, среди опухолей с MSI-статусом встречается гораздо большее число PD-L1-положительных опухолевых и иммунных клеток, а также увеличенное количество лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль [24,35,99].

В исследовании KEYNOTE-59 у 67% (174/259) включенных пациентов был определен статус MSI, из которых у 4% (7/174) выявлен статус MSI. У пациентов РЖ с MSI-статусом частота объективного ответа на лечение пембролизумабом составила 57,1% по сравнению с частотой в 9% у пациентов с MSS-статусом [55]. В исследовании CHECKMATE-32 во всех группах исследования результаты лечения были значительно выше у пациентов с MSI-статусом по сравнению с пациентами с MSS-статусом [71].

В post-hoc анализе пациентов, включенных в исследование KEYNOTE61, у пациентов с MSI опухолями была отмечена более высокая частота ответа на лечение пембролизумабом (47%, независимо от экспрессии PD-L1(CPS)), по сравнению с частотой в 17% в группе пациентов, получивших химиотерапию на основе паклитаксела [156]. В исследовании CHECKMATE 62 общая выживаемость была лучше у пациентов с MSI опухолями с экспрессией PD-L1 (CPS) ≥ 1 . Прогностическое значение PD-L1 CPS ≥ 10 оставалось значимым независимо от статуса MSI, демонстрируя независимую ценность обоих биомаркёров.

Мета-анализ включал в себя данные из исследований KEYNOTE-061, CHECKMATE-649, JAVELIN Gastric 100 и KEYNOTE-062, в результате чего были представлены доказательства улучшения общей выживаемости и частоты ответа на лечение у пациентов с диссеминированным РЖ с MSI-статусом, получавших анти-PD-1 терапию, со значительно лучшей ОВ по сравнению с

пациентами с MSS-статусом [72,111,156,157]. Также в 2021 году был проведен post-hoc анализ результатов лечения 1614 пациентов, включенных в исследования KEYNOTE-059, KEYNOTE-061 и KEYNOTE-062, у 84 из которых был рак желудка и кардиоэзофагеального перехода с MSI-статусом. В этом анализе результаты лечения пембролизумабом сравнивали с химиотерапией независимо от линии терапии [30]. Результаты этого исследования показали, что пембролизумаб в монотерапии или в сочетании с химиотерапией ассоциировался с улучшением БРВ и ОВ, а также наличием устойчивого противоопухолевого эффекта по сравнению с только химиотерапией, что указывает на возможность применения MSI-статуса в качестве биомаркера для отбора пациентов, независимо от линии терапии.

1.8.3 Вирус Эпштейна-Барр

Как обсуждалось выше, по классификации TCGA EBV-позитивные опухоли выделяются в отдельную подгруппу РЖ [38]. Среди прочих особенностей, эти опухоли характеризуются обильной лимфоцитарной инфильтрацией, содержащей CD8-положительные цитотоксические Т-клетки и большое количество зрелых дендритных клеток, а также обогащены сигнальными путями иммунных клеток [76,81]. Кроме того, около 15% EBV-положительных опухолей имеют амплификацию PD-L1 и гены, кодирующие PD-L2, а также имеют экспрессию PD-L1 как в опухолевых клетках, так и в иммунных клетках. Эти особенности позволяют предположить, что EBV-позитивный РЖ может быть более восприимчив к блокаде PD-1/PD-L1 [24,38,45].

В литературе описаны случаи ответа на лечение авелумабом у EBV-положительных опухолей [126]. В клиническом исследовании, в котором оценивалась эффективность торипалимаба (антитело к PD-1) у 55 пациентов с диссеминированным РЖ, из 4 пациентов с EBV-ассоциированной опухолью в 1 случае отмечен частичный ответ, у 2 пациентов выявлена стабилизация заболевания, и в 1 случае выявлено прогрессирование заболевания. В

проспективном клиническом исследовании II фазы с участием 61 пациента с метастатическим РЖ, получавших лечение пембролизумабом, было показано, что у 6 пациентов с EBV-положительными опухолями частота объективного ответа (ЧОО) составила 100%, в то время как в общей группе пациентов лишь 24,6% [79]. В этом исследовании также было 7 больных РЖ с MSI статусом, и в этой группе ЧОО составила 85,7%. Эти данные позволяют предположить, что пациенты с EBV-позитивным РЖ могут получать пользу от терапии пембролизумабом. Необходимы крупные проспективные клинические испытания для оценки EBV-положительного статуса опухоли в качестве биомаркера для иммунотерапии у больных РЖ.

1.8.4 Мутационная нагрузка опухоли (TMB, Tumor mutational burden)

В процессе роста и прогрессирования опухолевые клетки приобретают тысячи различных мутаций. Несинонимичные мутации заставят опухоли экспрессировать неоантигены, которые специфичны для опухолевых клеток и будут отличать их от нормальных клеток [179]. Эпитопы этих мутантных белков могут экспрессироваться на поверхности опухолевых клеток, что позволяет Т-клеткам распознавать эти клетки как чужеродные. Было показано, что мутационная нагрузка опухоли (TMB) и, следовательно, потенциал образования неоантигена в определенной опухоли будут определять эффективность ответа на иммунотерапию, поскольку клетки с высокой степенью мутационной нагрузки могут быть выделены и, следовательно, нацелены более эффективно [179,184]. Соответственно, меланома и немелкоклеточный рак легких – это опухоли с наибольшей мутационной нагрузкой, при этом они хорошо отвечают на терапию иммунных контрольных точек [10,25,58,88,145]. Интересно, что в исследовании, в котором оценивались почти 9900 опухолевых образцов из 35 разных типов опухоли, среди большинства типов опухолей не было обнаружено существенных корреляций между TMB и экспрессией PD-L1, что позволяет предположить, что

каждый из них может быть использован в качестве биомаркера для прогнозирования эффективности иммунотерапии [183].

Взаимосвязь между ТМВ и ответом на терапию пембролизумабом была изучена в исследовании, в котором приняли участие несколько когорт пациентов с различными типами солидных опухолей [101]. Объективный ответ на лечение наблюдался у 29% пациентов с высоким уровнем ТМВ (≥ 10 мутаций на мегабазу), по сравнению только с 6% у пациентов без высокого уровня ТМВ. Примечательно, что ТМВ имело прогностическую ценность независимо от экспрессии PD-L1 в опухоли и статуса MSI.

В исследовании пациентов с метастатическим раком желудочно-кишечного тракта, включая 57 пациентов РЖ, получавших ингибиторы иммунных контрольных точек, у пациентов с более высоким уровнем ТМВ наблюдалась более высокая ОВ, чем у пациентов с более низким ТМВ [97]. В другом исследовании среди 63 пациентов с метастатическими РЖ, получавших пембролизумаб или ниволумаб, у пациентов, ответивших на лечение, был значительно более высокий уровень ТМВ, чем у пациентов, не ответивших на лечение [152].

В клиническом исследовании, в котором анализировалась терапия торипалимабом (антитела PD-1) при диссеминированном РЖ, у пациентов с высоким уровнем ТМВ была значительно более высокая медиана ОВ (14,6 месяцев), чем у пациентов с низким уровнем ТМВ (4,0 месяца) [176]. Анализ ТМВ у пациентов KEYNOTE-061 показал, что уровень ТМВ ≥ 10 мут/Мб обладает положительной корреляцией с частотой объективного ответа, БРВ и ОВ у пациентов, получавших пембролизумаб, в отличие от группы пациентов, получивших химиотерапию паклитакселом [156]. Интересно, что преимущества в общей выживаемости при применении пембролизумаба по сравнению с паклитакселом при ТМВ ≥ 10 мут/Мб сохранялись, когда из анализа были исключены пациенты с MSI-статусом. Таким образом, уровень ТМВ, по-видимому, является потенциальным биомаркером при иммунотерапии РЖ, и не при всех видах опухолей [105].

1.9 Периоперационная химио-иммунотерапия РЖ с MSI статусом

В последнее время активно обсуждается возможность проведения периоперационной иммунотерапии пациентам РЖ с MSI-статусом. Так, в исследовании Zhang и соавт. у 5 из 6 пациентов с MSI местно-распространенным раком желудка с MSI-статусом, получивших периоперационную химиоиммунотерапию, достигнут полный патоморфологический ответ (TRG-1) [190]. Схожие результаты были показаны и во IIb фазе исследования DANTE, где добавление атезолизумаба к периоперационному режиму FLOT позволило добиться полного лечебного патоморфоза у 6 из 10 (60%) пациентов с MSI-статусом [9]. Возможность отказа от химиотерапии за счет комбинированной иммунотерапии ниволумабом и ипилимумабом была показана во II фазе исследования NEONIPIGA, где после 12 недель терапии частота полного лечебного патоморфоза составила те же 58,6%, и лишь у 1 пациента (3%) отмечено прогрессирование заболевания в процессе терапии [14]. Для выбора оптимального варианта использования иммунотерапии у больных резектабельным раком желудка с MSI-статусом (иммунотерапия анти-PD1 антителами, двойная иммунотерапия, химиоиммунотерапия), а также факторов, предсказывающих их эффективность, требуются дальнейшие исследования.

Схожий результат был отмечен в I фазе японского исследования, где в неoadьювантном режиме проводили 2 курса монотерапии ниволумабом у больных резектабельным РЖ. У 4 пациентов из 7 (57%) с MSI-статусом опухоли был получен хороший ответ на лечение [64]. При этом следует отметить некоторые ограничения этого исследования, которые заключается в малом количестве пациентов и только двух введениях ниволумаба. Еще одно исследование показало отличный результат при проведении периоперационной химиоиммунотерапии. Li и соавт. показали результаты лечения 3 пациентов с клиническими стадиями заболевания cT4aN2M0. Все 3 пациента получили 3, 5 или 6 курсов терапии по схеме синтилимаб + химиотерапия в режиме XELOX. У всех пациентов отмечен полный регресс опухоли [94].

В многоцентровом исследовании II фазе INFINITY изучались результаты лечения пациентов, которые получили 12-недельную периоперационную терапию тремелимумабом в комбинации с дурвалумабом [133]. Среди 15 прооперированных пациентов у 9 больных (60%) была достигнута полная патоморфологическая регрессия, у 12 (80%) пациентов была получена значительная патоморфологическая регрессия (TRG-1 и TRG-2).

Chen и соавт. в исследовании показали, что среди больных с опухолями ЖКТ назначение монорежима иммунотерапии при опухолях с MSI-статусом было ассоциировано с более худшим прогнозом, чем при назначении комбинации химиотерапии с ингибитором иммунных контрольных точек [33].

Таким образом, назначение периоперационной иммунотерапии у больных с MSI-статусом — это новое перспективное направление, требующее более детального и углубленного изучения. Ряд исследований (INFINITY study- clinical trial NCT04817826, PANDA study –clinical trial NCT03448835, ICONIC study – clinical trial NCT03399071, KEYNOTE-585 study –clinical trial NCT03221426, IMHOTEP study- clinical trial NCT04795661) на сегодняшний день изучают роль периоперационной иммунотерапии в лечении больных резектабельным РЖ [41].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами был проведён ретроспективный и проспективный анализ результатов лечения пациентов раком желудка, которым выполнялась оценка статуса микросателлитной нестабильности методом ПЦР-тестирования в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» в период с сентября 2019 года по февраль 2023 года (с 2019 года в рутинную практику было внедрено опеределение MSI-статуса при помощи ПЦР). Ретроспективный анализ проводился по архивной медицинской документации в электронной медицинской базе. Отбор медицинской документации для анализа проводился в архиве НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, поиск проводился по кодировке диагноза С16 согласно классификации МКБ-10.

Проведен анализ клинико-демографических показателей, таких как пол, возраст, гистологический тип опухоли (согласно морфологической верификации на предоперационном этапе), статус микросателлитной нестабильности. Для оценки степени распространенности заболевания применялась эзофагогастродуоденоскопия с эндосонографией и методы лучевой диагностики: ультразвуковое исследование, компьютерная томография (КТ) с внутривенным контрастированием, магнитно-резонансная томография (МРТ) с внутривенным контрастированием или позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ-КТ) при необходимости. Также всем пациентам с резектабельным раком желудка для оценки распространенности опухолевого процесса выполнялась диагностическая лапароскопия с цитологическим исследованием перитонеальных смывов, а также, при необходимости, гистологическое исследование очагов по брюшине, подозрительных на метастатические (либо во время отдельной диагностической лапароскопии, либо интраоперационно).

Изучены и проанализированы непосредственные и отдаленные результаты хирургического лечения. Анализировались такие показатели, как гистологический тип опухоли, глубина инвазии, классификация опухоли по P. Lauren, наличие или отсутствие опухолевых клеток в проксимальном и дистальном крае резекции,

наличие периневральной или сосудистой инвазии, частота и степень тяжести послеоперационных осложнений (по классификации Clavien-Dindo), и также лечебный патоморфоз опухоли, если пациенты получили периоперационную терапию. При анализе отдаленных результатов безрецидивной выживаемостью (БРВ) считался период времени от начала лечения до появления признаков прогрессирования заболевания, смерти или последнего наблюдения больного, общей выживаемостью (ОВ) считался период времени от начала лечения до смерти по любой причине или до последнего наблюдения.

2.1 Дизайн исследования

В общей сложности в исследование было включено 728 пациентов, у которых был проведён анализ непосредственных и отдаленных результатов в зависимости от статуса микросателлитной нестабильности. В последующем пациенты были разделены на 5 групп.

Пациенты с резектабельным раком желудка, получившие:

- 1.1 хирургическое лечение с последующей адъювантной химиотерапией.
- 1.2 только хирургическое лечение.
- 1.3 периоперационную химиотерапию с хирургическим лечением.
- 1.4 периоперационную химио-иммунотерапию (при наличии MSI-H-статуса) с хирургическим лечением.

Пациенты с диссеминированным раком желудка.

2.2 Методика определения MSI-статуса

ДНК из опухолевой ткани, фиксированную в формалине и заключённую в парафине (FFPE), выделяли с помощью набора «GeneRead DNA FFPE Kit (50)» (Qiagen) согласно инструкции. С помощью микротомы с парафинового блока был сделан срез толщиной 10 микрон. Из данного среза выделяли ДНК, которую использовали на дальнейших этапах.

Исследование проведено у 728 пациентов (478 пациентов - на биопсионном материале, 250 пациентов - на послеоперационном материале) в молекулярно-биологической лаборатории ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Наличие микросателлитной нестабильности (microsatellite instability, MSI) определялось методом ПЦР в образцах ДНК, выделенных из срезов опухолевой ткани, с использованием панели из пяти моноклеотидных маркеров (BAT25, BAT26, NR21, NR24, NR27), ассоциированных со структурно-функциональными нарушениями системы репарации неспаренных оснований ДНК, с последующим проведением фрагментного анализа на платформе Beckman Coulter GenomeLab фенотипам: при отсутствии нестабильности по всем маркерам опухоль относилась к микросателлитно стабильному фенотипу (MSS). Наличие нестабильности по двум и более из исследуемых маркеров оценивалось как высоко генетически нестабильный фенотип опухоли (MSI). В нашем исследовании мы объединяли MSS и MSI-Low в одну группу для исследования.

2.3 Оценка экспрессии PD-L1

Определение экспрессии PD-L1 проводилось в патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. У 120 пациентов проведена оценка экспрессии PD-L1 в опухолевых клетках путём иммуногистохимического исследования (в 66 случаях – на биопсийном материале, в 54 случаях – на операционном гистологическом материале). Анализ проводили на парафиновых срезах из опухолевых блоков на иммуногистостейнере Dako EnVision Flex, оценка результатов исследования проведена в соответствии с рекомендациями производителя тест-системы с использованием клона антител–22C3 pharmDx (Dako). Положительной считалась оценка Combined Positive Score (CPS) не менее 1 в опухолевых и/или иммунных клетках.

2.4 Режим использованного лекарственного терапии

Применяемые в исследовании схемы химиотерапии и иммунотерапии представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Схемы химиотерапии и иммунотерапии, применявшиеся при лечении больных раком желудка

Название режима	Препараты	Доза(мг/м ²), способ введения	Дни введения	Цикличность
FLOT	доцетаксел	50 мг/м ² в/в	1	каждые 2 недели
	оксалиплатин	85 мг/м ² в/в	1	
	кальция фолинат	200 мг/м ² в/в	1	
	5-фторурацил	2600 мг/м ² в/в 24 часа	1	
FOLFIRINOX	иринотекан	180 мг/м ² в/в	1	каждые 2 недели
	оксалиплатин	85 мг/м ² в/в	1	
	кальция фолинат	400 мг/м ² в/в	1	
	5-фторурацил	250-400 мг/м ² в/в струйно + 2200-2400 мг/м ² в/в 46 часов	1	
XELOX	оксалиплатин	100-130 мг/м ² в/в	1	каждые 3 недели
	капецитабин	2000 мг/м ² в сутки внутрь за 2 раза	1-14	
FOLFOX	оксалиплатин	85 мг/м ² в/в	1	каждые 2 недели
	кальция фолинат	400 мг/м ² в/в	1	
	5-фторурацил	400 мг/м ² в/в струйно + 2400 мг/м ² в/в 48 часов	1	
Ниволумаб	Ниволумаб	240 мг в/в	1	каждые 2 недели
Пембролизумаб	Пембролизумаб	200 мг в/в	1	каждые 3 недели

2.5 Вид хирургического лечения

Объем оперативного вмешательства определялся распространенностью и стадией опухолевого процесса, локализацией и размерами опухоли, морфологическими характеристиками опухоли, наличием или отсутствием поражения регионарных лимфоузлов, возрастом и общим состоянием пациента, степенью выраженности сопутствующей патологии. За исключением операций в объеме эндоскопической резекции слизистой желудка, все остальные оперативные вмешательства сопровождалось выполнением лимфодиссекции объема D2. Виды вмешательств и показания к их выполнению представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Виды проведенных оперативных вмешательств и показания к ним

Вид вмешательства	Показания
Эндоскопическая резекция слизистой желудка	кишечный тип опухоли по P. Lauren, глубина инвазии опухоли в пределах слизистой оболочки желудка (T1a) и размер опухоли не более 2 см
Дистальная субтотальная резекция желудка	Ранний рак антрального отдела и нижней трети тела желудка; рак антрального отдела тип Borrmann I, II, III без инвазии серозной оболочки, распространение опухоли не выше угла желудка
Проксимальная субтотальная резекция желудка	Ранний рак кардиального и субкардиального отделов желудка; поражение кардиального отдела желудка опухолью типа Borrmann I и Borrmann II не более 4 см в наибольшем измерении, без инвазии серозной оболочки.
Гастрэктомия	В остальных случаях операцией выбора является гастрэктомия. Диффузно-инфильтративный (Borrmann IV) и мультицентрический рак желудка, независимо от локализации, размеров и глубины инвазии опухоли являются абсолютными показаниями к гастрэктомии
Операция Льюиса	рак кардиоэзофагеального перехода I или II типа по классификации Siewert

2.6 Оценка степени лечебного патоморфоза (TRG, Tumor Regression Grade)

У пациентов, получивших хирургическое лечение после неoadъювантного этапа периоперационной терапии, при проведении планового гистологического исследования удалённой опухоли также оценивалась степень лечебного патоморфоза. Оценка проводилась с использованием критериев, разработанных А.М. Mandard и соавт. [100] Данные критерии представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Критерии степени лечебного патоморфоза (Tumor Regression Grade, TRG) по Mandard

TRG-1	Отсутствие жизнеспособных опухолевых клеток, наличие очага фиброза на месте опухоли
TRG-2	Сохранение немногочисленных жизнеспособных опухолевых клеток на фоне фиброзных изменений
TRG-3	Большое количество сохранных опухолевых клеток на фоне преобладания фиброза
TRG-4	Опухолевые элементы преобладают над фиброзными изменениями
TRG-5	Отсутствие признаков регрессии опухоли, отсутствие фиброза

2.7 Критерии RECIST 1.1

В нашем исследовании при анализе ответа опухоли на лекарственную терапию при диссеминированном РЖ по данным рентгенологических методов исследования использовались критерии RECIST 1.1 [49]. Критерии оценки представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Критерии оценки ответа солидных опухолей по RECIST (версия 1.1, 2009г.)

Частичный ответ	Уменьшение суммы диаметров таргетных очагов не менее чем на 30%
-----------------	---

Полный ответ	Исчезновение всех очагов. Любой из прежде увеличенных лимфатических узлов должен иметь короткую ось менее 10 мм.
Прогрессирование	Увеличение на 20% и более суммы диаметров таргетных очагов (>5 мм); появление одного или нескольких новых очагов; безусловная прогрессия нецелевых очагов
Стабилизация	Все остальное

2.8 Методы статистического анализа данных

Статистический анализ, расчет и графические построения проводились с помощью программ Microsoft Excel и RStudio (Version 2023.03.0+386, Posit Software, PBC). Рассчитывалось среднее значение показателей, медиана. С помощью однофакторного статистического анализа прогностической значимости с учетом основных клинико-морфологических, молекулярно-генетических признаков и показателей общей выживаемости пациентов, были отобраны наиболее значимые показатели. Проведен анализ факторов, влияющих на отделенные результаты. В рамках отдаленных результатов оценивали 1-летнюю и 2-летнюю БРВ. Временем до прогрессирования считался период (в месяцах) от начала проведения специфического противоопухолевого лечения до прогрессирования опухоли.

Анализ общей и безрецидивной выживаемости проводили по методу Каплан-Майера. Достоверность различий между группами определяли с использованием теста log-rank. Различия статистически значимыми считались при $p < 0,05$.

Одно- и многофакторный анализ взаимосвязи между зависимой и независимыми переменными (определение независимого влияния потенциальных факторов риска на скорость наступления изучаемого события за изучаемый промежуток времени) осуществляли с применением модели пропорциональных рисков (регрессии) Кокса.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Характеристика исследуемых групп

3.1.1 Частота выявления микросателлитной нестабильности

В основной анализ вошло 728 пациентов, из них 455 пациента имели резектабельный РЖ, а 273 пациента - диссеминированный РЖ. Частота выявления микросателлитной нестабильности у всей когорты пациентов составила 8,52% (62/728), MSI-статус при резектабельном РЖ обнаружен у 11,65% пациентов (53/455) и 3,3% пациентов (9/273) при диссеминированном РЖ ($p < 0.001$). Медиана возраста пациентов с резектабельным РЖ и диссеминированным РЖ составила 63 года (диапазон: 24-91) и 61 года (диапазон: 26-85) соответственно. Подробные данные о распределении пациентов в зависимости от полученного лечения и статуса MSI представлены на рисунке 2. Далее нами была изучена частота выявления микросателлитной нестабильности в каждой исследуемой группе, результаты анализа представлены в таблице 9.

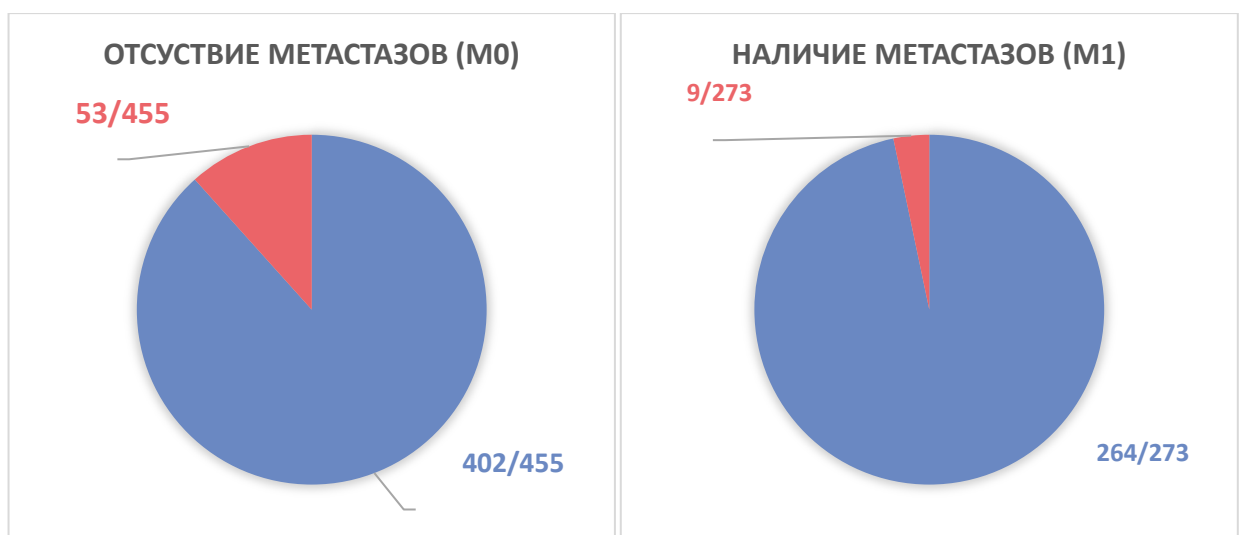


Рисунок 2 – Частота наличия MSI-статуса в зависимости от отсутствия (M0) или наличия (M1) отдалённых метастазов

Таблица 9 – Частоты наличия MSI-статуса у групп пациентов, получивших различные варианты лечения

	MSS-статус, n (%)	MSI-статус, n (%)	Итого
Пациенты, получившие хирургическое лечение и адъювантную химиотерапию	44 (89,8%)	5 (10,2%)	49
Пациенты, получившие только хирургическое лечение	107 (87,7%)	15 (12,3%)	122
Пациенты, получившие периоперационную химиотерапию	251 (92,28%)	21 (7,72%)	272
Пациенты, получившие периоперационную химио-иммунотерапию	0	12 (100%)	12
Больные с диссеминированным РЖ	264 (96,7%)	9 (3,3%)	273

3.1.2 Клинико-морфологические характеристики больных

Стадирование опухолевого процесса проводилось по 8-й редакции классификации TNM (AJCC-TNM), однако при операбельном РЖ мы не выявили зависимости частоты встречаемости MSI-H-статуса от стадии заболевания. Соотношение групп пациентов с различными клиническими стадиями заболевания представлено на рисунке 3.

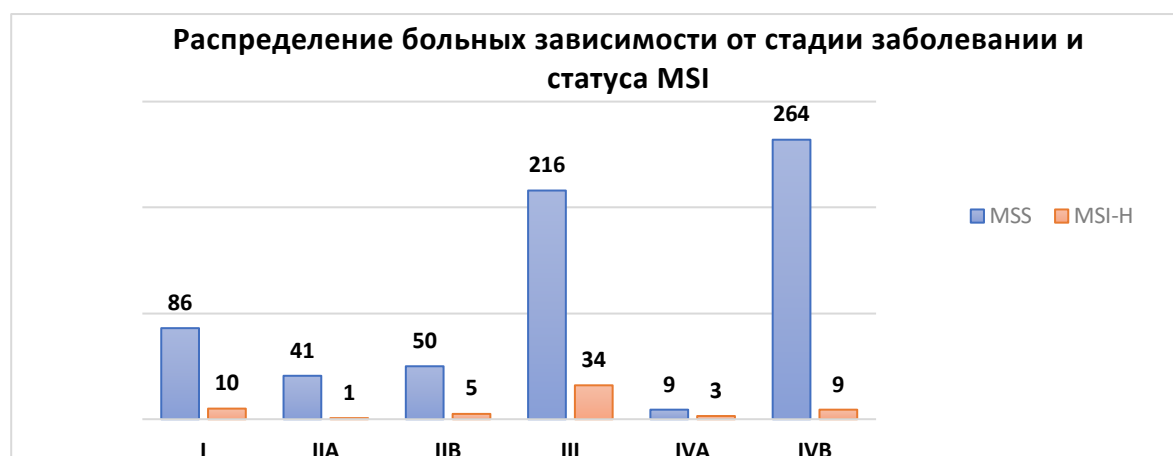


Рисунок 3 – Распределение больных в зависимости от стадии заболевания и статуса MSI

Общая клинико-морфологическая характеристика группы пациентов, включённых в исследование, представлена в таблице 10.

Таблица 10 – Клинико-морфологические характеристики пациентов

	Суммарно (n=728)	MSS-статус, n (%)	MSI-статус, n (%)	Значимость (p-value)
Возраст, n (%)				
<65 лет	425	401 (60,21%)	24 (38,71%)	0.001
≥ 65 лет	303	265 (39,79%)	38 (61,29%)	
Пол, n (%)				
Мужской	436	408 (61,26%)	28 (45,16%)	0.013
Женский	292	258 (38,74%)	34 (54,84%)	
Клиническая стадия cTNM, n (%)				
I	96	86 (12,91%)	10 (16,13%)	<0.001
IIA	42	41 (6,16%)	1 (1,61%)	
IIB	55	50 (7,51%)	5 (8,06%)	
III	250	216 (32,43%)	34 (54,84 %)	
IVA	12	9 (1,35%)	3 (4,84%)	
IVB	273	263 (39,49%)	9 (14,52%)	
cTNM				
cT1	45	41 (6,16%)	4 (6,45%)	0.002
cT2	113	104 (15,62%)	9 (14,52%)	
cT3	240	220 (33,03%)	20 (32,26%)	
cT4a	313	290 (43,54%)	23 (37,10%)	
cT4b	17	11 (1,65%)	6 (9,68%)	
cN0	183	168 (25,23%)	15 (24,19%)	0.857
cN+	545	498 (74,77%)	47 (75,81%)	
M0	455	402 (60,36%)	53 (85,48%)	<0.001
M1	273	264 (39,64%)	9 (14,52%)	

Локализация опухоли, n (%)				
Верхняя треть	110	108 (16,22%)	2 (3,23%)	<0.001
Средняя треть	385	357 (53,60%)	28 (45,16%)	
Нижняя треть	215	183 (27,48%)	32 (51,61%)	
Тотальное поражение	18	18 (2,70%)	0	
Гистологический тип по классификации P. Lauren, n (%)				
Кишечный тип	304	267 (40,09%)	37 (59,68%)	<0.001
Диффузный тип	219	213 (31,98%)	6 (9,68%)	
Смешанный тип	120	107 (16,07%)	13 (20,97%)	
Нет данных	85	79 (11,86%)	6 (9,68%)	
Степень злокачественности, n (%)				
Высокая	167	148 (22,22%)	19 (30,65%)	0.468
Низкая	219	199 (29,88%)	20 (32,25%)	
Нет данных	342	319 (47,90%)	23 (37,10%)	
HER-2/neu статус, n (%)				
Отрицательный	473	431 (64,71%)	42 (67,74%)	0.489
Положительный	50	47 (7,06%)	3 (4,84%)	
Не определен	205	188 (28,23%)	17 (27,42%)	

Как видно из представленных данных, частота выявления MSI-статуса в группе пациентов старше 65 лет оказалась значительно выше (61,29%), чем в группе пациентов моложе 65 лет (38,71%), различия были статистически значимы ($p=0.001$). Также было выявлено, что MSI-статус чаще встречался у женщин (54,84% случаев), чем у мужчин (45,16% случаев), различия также были статистически достоверны ($p=0,013$). При анализе частоты встречаемости различных локализаций первичной опухоли с MSI-статусом было отмечено, что такие опухоли чаще локализуются в нижней трети желудка (51,61% случаев) ($p < 0,001$). Также, в этой группе пациентов опухоли чаще имели кишечный гистологический тип по классификации P. Lauren (59,68% случаев) ($p < 0,001$).

Интересно, что среди 45 пациентов с MSI-статусом опухоли мы диагностировали 3 случая с наличием положительной экспрессии HER2/neu.

3.1.3 Обсуждение

Частота выявления статуса микросателлитной нестабильности в общей исследуемой группе пациентов составила 8,52% (62/728). Среди больных с резектабельным РЖ у 11,65% пациентов (52/455) была выявлена микросателлитная нестабильность в опухолевой ткани, а среди больных с диссеминированным РЖ частота выявления MSI-статуса была значительно ниже и составляла 3,3% (9/273) ($p < 0,001$). По данным проведённого нами анализа частота выявления MSI-статуса составила 8,91% при локализованном РЖ и 5,27% при метастатическом РЖ. Полученные нами данные соответствуют данным проведённого анализа зарубежной литературы. Эти различия в частоте встречаемости MSI положительных опухолей при локализованном и диссеминированном РЖ может быть связано с тем, что опухоли с MSI-статусом имеют более высокий уровень инфильтрации иммунными клетками, которые могут помочь предотвратить опухолевую прогрессию.

В нашем исследовании наличие MSI-статуса у больных РЖ было ассоциировано с пожилым возрастом (≥ 65 лет), женским полом и локализацией опухоли в нижней трети желудка, особенно в антральном отделе. Более того, у большинства пациентов с MSI-статусом в 59,68% случаев (37/62) был выявлен кишечный гистологический подтип опухоли (по классификации P. Lauren). Однако, в соответствии с другими исследованиями, мы также выявляли случаи наличия MSI-статуса среди опухолей с диффузным и смешанным подтипом, при которых благоприятный исход по сравнению с опухолями с MSS-статусом был подвергнут сомнению Marrelli и соавт. [103,136,193]. В противоположность распространённому представлению о том, что фенотип MSI при РЖ ограничен опухолями кишечного типа, наши данные представляют дополнительные доказательства того, что ограничение анализа микросателлитного статуса (также в

отношении диагностики синдрома Линча) случаями РЖ кишечного типа может быть не адекватным.

Наш анализ также показал, что среди MSI-положительных опухолей встречались случаи опухолевого процесса на более ранней стадии. Как было показано Ап и соавт. в 2012г., при резектабельном РЖ у большинства пациентов, включенных в исследование, исходная клиническая стадия была I-III [12].

3.2 Результаты комбинированного лечения больных резектабельным раком желудка в зависимости от MSI-статуса

3.2.1 Общая характеристика группы пациентов

В исследование были включены пациенты с резектабельным РЖ, а именно больные, получившие только хирургическое лечение или в комбинации с адьювантной/периоперационной терапией. Всего были проанализированы результаты лечения 443 больных, среди которых пациентов с MSS-статусом было 402 (90,74%), а пациентов с MSI-статусом – 41 (9,26%). Медиана возраста больных с MSS-статусом составила 63 года (диапазон от 24 до 88 лет), а для группы с MSI-статусом - 67 года (диапазон от 31 до 91 года), различия не были статистически значимы ($p = 0,056$). Соотношение мужчин и женщин было 251:151 (62,4% против 37,6%) в группе с MSS-статусом и 20:21 (48,8% против 51,2%) в группе с MSI-статусом. (Таблице 11)

Таблица 11 – Клинико-морфологические характеристики пациентов

	Суммарно (n=443)	MSS-статус, n=402 (%)	MSI-статус, n=41 (%)	Значимость (p-value)
Медиана возраста, лет (диапазон)	-	63 (24-88)	67 (31-91)	0.056
Пол, n (%)				
Мужской	271	251 (62,4%)	20 (48,8%)	0.087
Женский	172	151 (37,6%)	21 (51,2%)	

Клиническая стадия cTNM, n (%)				
I	94	86 (21,4%)	8 (19,5%)	0,086
IIA	41	41 (10,2%)	0	
IIB	55	50 (12,4%)	5 (12,2%)	
III	241	216 (53,7%)	25 (61,0 %)	
IVA	12	9 (2,2%)	3 (7,3%)	
cTNM				
cT1	43	39 (9,7%)	4 (9,8%)	0.001
cT2	91	86 (21,4%)	5 (12,2%)	
cT3	150	138 (34,3%)	12 (29,3%)	
cT4a	144	130 (32,3%)	14 (34,1%)	
cT4b	15	9 (2,2%)	6 (14,6%)	
cN0	152	139 (34,6%)	13 (31,7%)	0,712
cN+	291	263 (65,4%)	28 (68,3%)	
Локализация опухоли, n (%)				
Верхняя треть	60	58 (14,4%)	2 (4,9%)	0,038
Средняя треть	235	216 (53,7%)	19 (46,3%)	
Нижняя треть	144	124 (30,8%)	20 (48,8%)	
Тотальное поражение	4	4 (1,0%)	0	
Гистологический тип по классификации P. Lauren, n (%)				
Кишечный тип	229	204 (50,7%)	25 (61,0%)	0,091
Диффузный тип	119	114 (28,4%)	5 (12,2%)	
Смешанный тип	71	63 (15,7%)	8 (19,5%)	
Нет данных	24	21 (5,2%)	3 (7,3%)	
Степень злокачественности, n (%)				
Высокая	161	149 (37,1%)	12 (29,3%)	0,20
Низкая	248	220 (54,8%)	28 (68,3%)	
Нет данных	34	33 (8,2%)	1 (2,4%)	

3.2.2 Результаты однофакторного и многофакторного анализа

В дальнейшем был проведён однофакторный регрессионный анализ по Коксу для оценки влияния клинических и морфологических факторов на безрецидивную и общую выживаемость. Результаты в таблице 12.

Таблица 12 – Результаты однофакторного анализа прогностической значимости клинико-морфологических факторов

Фактор	Однофакторный анализ БРВ		Однофакторный анализ ОВ	
	P-value	Отношение рисков (95% ДИ)	P-value	Отношение рисков (95% ДИ)
Возраст	0,81	0,99 (0,98-1,01)	0,213	1,01 (0,99-1,04)
Пол				
-Мужской		1		1
-Женский	0,82	1,04 (0,71-1,53)	0,46	0,83 (0,50-1,37)
Статус MSI				
-MSI		1		1
-MSS	0,20	0,68 (0,38-1,22)	0,012	0,43 (0,23-0,84)
Клиническая стадия				
-I/IIA/IIIB	-	1	-	1
-III/IVA	0,07	1,42 (0,96-2,09)	0,124	1,47 (0,90-2,43)
Локализация опухоли				
-нижняя треть	-	1	-	1
-другие локализации	0,53	1,14 (0,76-1,71)	0,594	1,15 (0,68-1,95)
Классификация по Lauren				
-Диффузный тип	-	1	-	1
-Кишечный тип	0,130	0,72 (0,46-1,10)	0,718	0,90 (0,52-1,57)
-Смешанный тип	0,979	0,99 (0,55-1,79)	0,691	0,84 (0,35-1,99)
-Не определён	0,596	1,23 (0,57-2,65)	0,872	1,08 (0,35-3,01)
Степень злокачественности				
-Низкая	-	1	-	1
-Высокая	0,238	1,27 (0,85-1,89)	0,615	1,14 (0,67-1,93)
-Нет данных	0,859	0,94 (0,45-1,93)	0,256	1,33 (0,71-3,57)
Была ХТ				
Нет	-	1	-	1
Да	0,04	1,59 (1,01-2,53)	0,387	1,29 (0,72-2,30)

*- различия статически значимы ($p < 0.05$); 95% ДИ - 95% доверительный интервал

При однофакторном анализе было показано, что статистически значимое негативное влияние на безрецидивную выживаемость оказывают такие факторы как более поздняя стадия заболевания и проведение химиотерапии. При анализе факторов, влияющих на общую выживаемость, было показано, что статус MSS является фактором благоприятного прогноза.

Следующим этапом был проведён многофакторный анализ прогностической значимости клинико-морфологических факторов, влияющих на БРВ. В анализ включались все факторы, имеющих при однофакторном анализе степень значимости $p < 0.1$. Результаты представлены на рисунке 4.

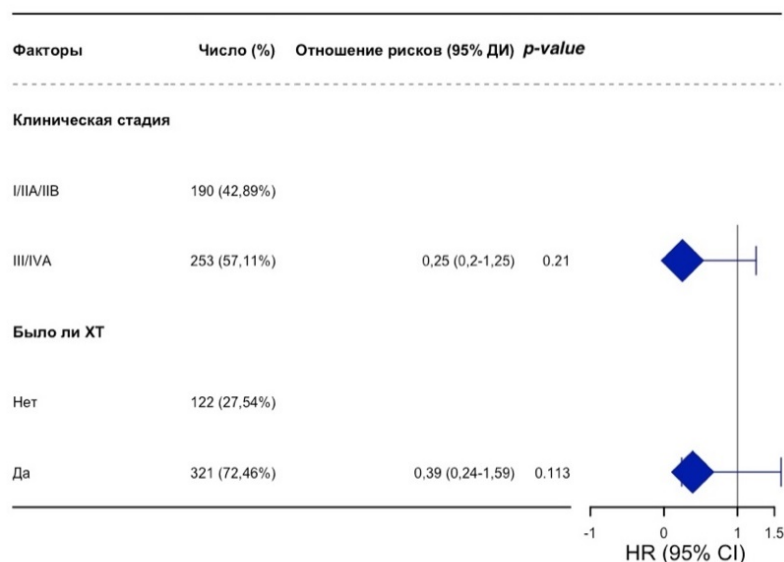


Рисунок 4 – Результаты многофакторного регрессионного анализа влияния клинико-морфологических факторов на безрецидивную выживаемость больных операбельных раком желудка.

При многофакторном регрессионном анализе не было выявлено факторов, оказывающих статистически достоверное влияние на безрецидивную выживаемость среди больных операбельным раком желудка.

3.2.3 Отдалённые результаты лечения

В таблице 13 представлены отдалённые результаты лечения у больных с различным статусом микросателлитной нестабильности. В группе пациентов с MSS-статусом медиана наблюдения составила 26,5 месяцев, а в группе пациентов с MSI-статусом – 23 месяца.

Таблица 13 – Результаты оценки безрецидивной и общей выживаемости у больных с различным статусом микросателлитной нестабильности

	MSS-статус (n=402)	MSI-статус (n=41)
Медиана наблюдения, месяцы (диапазон)	16 (1-59)	15 (3-38)
6-месячная БРВ (%)	92,61%	82,78%
12-месячная БРВ (%)	84,01%	70,33%
24-месячная БРВ (%)	68,95%	62,80%
6-месячная ОВ (%)	97,20%	92,35%
12-месячная ОВ (%)	90,18%	86,09%
24-месячная ОВ (%)	84,95%	59,20%

Медиана БРВ в группе больных с MSI-статусом не достигнута, а медиана БРВ в группе пациентов с MSS-статусом составила 36 месяцев (ОР=0,68, 95% ДИ = 0,38-1,22, p=0,21) (Рисунок 5).

При анализе общей выживаемости в группе больных с MSI-статусом медиана ОВ не достигнута, а медиана ОВ в группе больных с MSS-статусом составила 58 месяцев (95% ДИ=44,85-71,15) (ОР=0,43, 95% ДИ=0,23-0,84, p=0,01) (Рисунок 6).

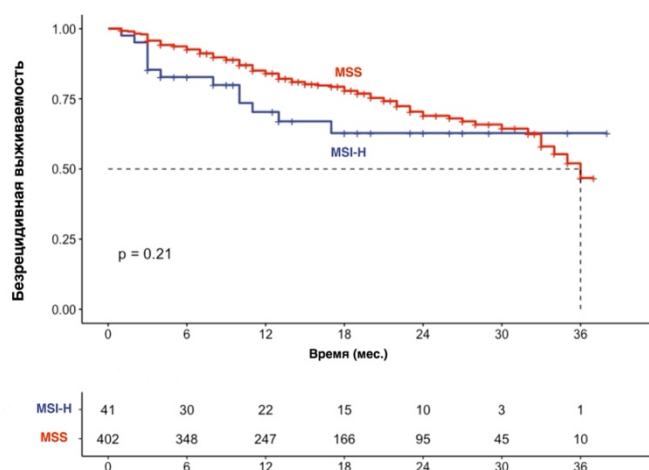


Рисунок 5 - Безрецидивная выживаемость больных резектабельным РЖ в зависимости от MSI-статуса

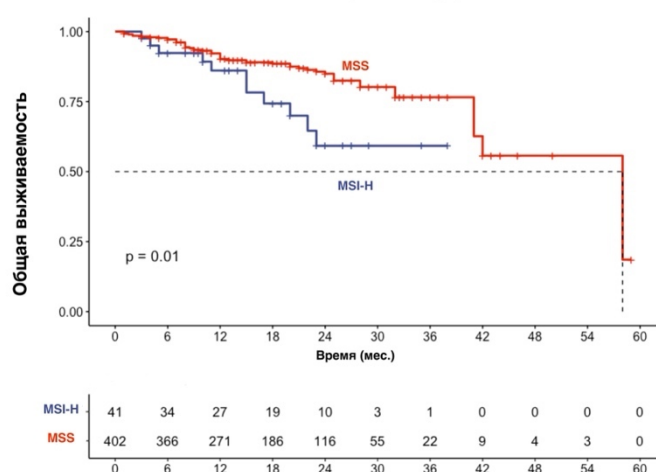


Рисунок 6 - Общая выживаемость больных резектабельным РЖ в зависимости от MSI-статуса

С целью определения причин более низких показателей БРВ и ОВ среди больных с MSI-статусом мы отдельно проанализировали пациентов, получивших химиотерапию вне зависимости от режима (адъювантный/периоперационный), и больных, получивших только хирургическое лечение.

3.3 Результаты хирургического лечения больных резектабельным раком желудка в зависимости от MSI-статуса

3.3.1 Общая характеристика пациентов

В исследование было включено 122 пациента, получивших только хирургическое лечение: пациентов с MSS-статусом было 107 (87,70%), а пациентов с MSI-статусом – 15 (12,30%). Медиана возраста для группы с MSS-статусом составила 65 лет (диапазон от 26 до 88 лет), а для группы с MSI-статусом – 74 года (диапазон от 58 до 91 года), различия не были статистически значимы ($p = 0,195$).

Соотношение мужчин и женщин было 71:36 (66,35% против 33,64%) в группе MSS и 7:8 (46,67% против 53,53%) в группе MSI. У большинства пациентов с MSI-статусом опухоль локализовалась в нижней трети желудка, а среди больных с MSS-статусом опухоль локализовалась в средней трети желудка. Подробная характеристика больных представлена в таблице 14. Сравниваемые группы различались распределением по стадии заболевания, где большинство пациентов из группы с MSS-статусом после операции имели I стадию заболевания, в то время как в группе больных с MSI-статусом большинство пациентов имели II или III стадию заболевания.

Таблица 14 – Общая характеристика пациентов, получивших только хирургическое лечение, в зависимости от MSI-статуса

	MSS-статус, (n=107)	MSI-статус, (n=15)	Значимость (P-Value)
Медиана возраста (диапазон)	65 (26-88)	74 (58-91)	0,19
Пол, n (%)			
Мужской	71 (66,35%)	7 (46,67%)	0,13
Женский	36 (33,64%)	8 (53,53%)	

pTNM, n (%)			
pT1	46 (42,99%)	6 (40,00%)	0,83
pT2	24 (22,43%)	5 (33,34%)	
pT3	20 (18,69%)	2 (13,33%)	
pT4a/4b	17 (15,89%)	2 (13,33%)	
pN0	73 (68,23%)	10 (66,67%)	0,90
pN+	34 (31,77%)	5 (33,33%)	
Стадия, n (%)			
IA	42 (39,25%)	4 (26,67%)	<0,05
IB	20 (18,69%)	5 (33,33%)	
IIA	8 (7,48%)	1 (6,67%)	
IIB	17 (15,88%)	1 (6,67%)	
IIIA	10 (9,35%)	3 (20,0%)	
IIIB	6 (5,61%)	1 (6,67%)	
IIIC	4 (3,74%)	0	
Периневральная инвазия, n (%)	30 (28,04%)	4 (26,67%)	0,91
Лимфоидная инфильтрация, n (%)	19 (17,76%)	5 (33,33%)	0,15
Васкулярная инвазия, n (%)	22 (20,56%)	3 (20%)	0,95
Локализация опухоли, n (%)			
Верхняя треть	14 (13,08%)	1 (6,67%)	0,26
Средняя треть	51 (47,67%)	5 (33,33%)	
Нижняя треть	40 (37,38%)	9 (60%)	
Тотальное поражение	2 (1,87%)	0	
Гистологический тип по Lauren, n (%)			
Кишечный	66 (61,68%)	9 (60,0%)	0,98
Диффузный	16 (14,95%)	2 (13,33%)	
Смешанный	20 (18,69%)	3 (20,0%)	
Не определен	5 (4,67%)	1 (6,67%)	

Степень злокачественности, n (%)			
Высокая	54 (50,47%)	10 (66,67%)	0,37
Низкая	45 (42,06%)	5 (33,33%)	
Нет данных	8 (7,47%)	0	
Her2/neu статус, n (%)			
Отрицательный	39 (36,45%)	7 (46,67%)	
Положительный	4 (3,75%)	0	
Не определен	64 (59,81%)	8 (53,33%)	

Мы не обнаружили различий по гистологическому типу опухоли (по P. Lauren), кишечный тип опухоли встречался в группах примерно с одинаковой частотой равной 60%. Высокая степень злокачественности встречалась у пациентов с MSI статусом чаще, чем у пациентов с MSS-статусом (66,67% по сравнению с 50,47%). Следует отметить, что экспрессия HER2/neu в группе пациентов с MSI-статусом не встречалась, в то время как в группе пациентов с MSS-статусом выявлены 4 случая с положительной экспрессией HER2/neu.

3.3.2 Характеристика проведенного хирургического лечения

Далее мы изучили характеристики проведенного хирургического лечения. В таблице 15 представлены результаты хирургического лечения в группах больных с различным статусом микросателлитной нестабильности.

Из представленных результатов видно, что в группе пациентов с MSS-статусом применялись различные объёмы оперативных вмешательств (эндоскопическая резекция слизистой желудка, гастрэктомия, дистальная или проксимальная субтотальная резекция желудка, а также проксимальная резекция желудка с резекцией пищевода из комбинированного доступа (операция Льюиса)). В группе больных с MSI-статусом выполнялись только 2 вида оперативных вмешательства - гастрэктомия и дистальная субтотальная резекция желудка. У 5 из 107 (4,67%) пациентов с MSS-статусом после хирургического

лечения при плановом гистологическом исследовании был выявлен положительный край резекции (R1). Среди пациентов с MSS-статусом, у 3 пациентов из 107 (2,8%) выполнялись комбинированные операции - удаление первичной опухоли дополнялось выполнением дистальной резекции поджелудочной железы со спленэктомией. Также стоит отметить, что послеоперационные осложнения встречались чаще в группе пациентов с MSS-статусом, хотя и разница не была статистически достоверной.

Таблица 15 – Особенности хирургического лечения в зависимости от статуса микросателлитной нестабильности

	MSS-статус (n=107)	MSI-статус (n=15)
Вид хирургического вмешательства, n (%)		
Эндоскопическая резекция желудка	7 (6.54%)	0
Гастрэктомия	62 (57.94%)	8 (53.53)
Дистальная субтотальная резекция желудка	36 (33.64%)	7 (46.67%)
Проксимальная субтотальная резекция желудка	1 (0.93%)	0
Операция Льюиса	1 (0.93%)	0
Комбинированные операции, n (%)		
Нет	104 (97,2%)	15 (100%)
Дистальная резекция поджелудочной железы, спленэктомия	3 (2,8%)	0
Частота послеоперационных осложнений, n (%)		
Положительный край резекции (R1), n (%)	5 (4,67%)	0

3.3.3 Отдалённые результаты хирургического лечения

В таблице 16 представлены отдалённые результаты хирургического лечения у больных с различным статусом микросателлитной нестабильности. В группе пациентов с MSS-статусом медиана наблюдения составила 18 месяцев, также в группе пациентов с MSI-статусом – 18 месяцев.

Таблица 16 – Результаты оценки безрецидивной и общей выживаемости у больных с различным статусом микросателлитной нестабильности

	MSS-статус (n=107)	MSI-статус (n=15)
Медиана наблюдения, месяца (диапазон)	18 (1-43)	18 (3-26)
6-месячная БРВ (%)	92,23%	100%
12-месячная БРВ (%)	86,78%	90,91%
6-месячная ОВ (%)	95,00%	100%
12-месячная ОВ (%)	90,51%	100%

Среди пациентов, получивших только хирургическое лечение, показатели БРВ были выше у пациентов с MSI-статусом опухоли, чем у пациентов с опухолями с MSS-статусом, хотя разница в полученных данных не является статистически достоверной (медиана БРВ не достигнута ни в одной группе) (Рисунок 7). При анализе группы только хирургического лечения по нашим данным была выявлена тенденция (статистически незначимая) к более высокой ОВ у пациентов с MSS-опухолями по сравнению с опухолями с MSI статусом (Рисунок 8).

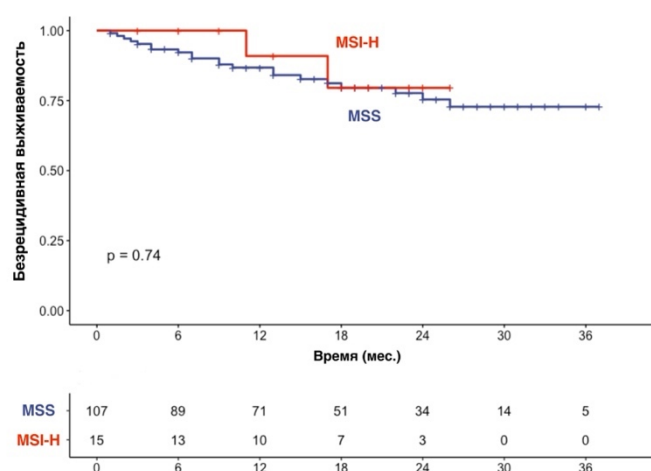


Рисунок 7 - Безрецидивная выживаемость больных резектабельным РЖ, получивших только хирургическое лечение, в зависимости от MSI-статуса

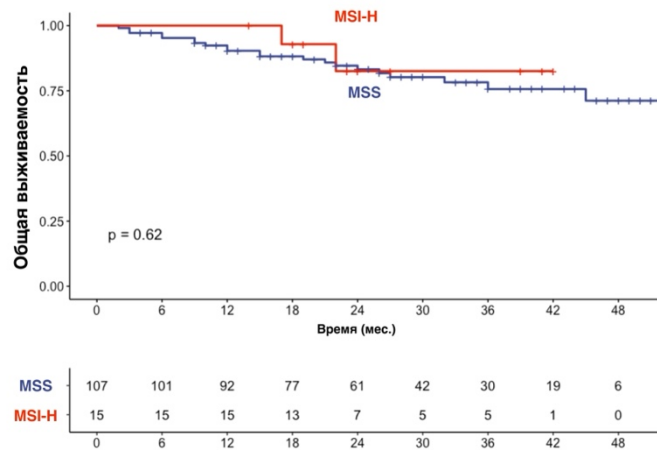


Рисунок 8 - Общая выживаемость больных резектабельным РЖ в зависимости от MSI-статуса

3.3.4 Обсуждение

Согласно текущим рекомендациям всем пациентам с местно-распространенным РЖ показано назначение периоперационной химиотерапии, за исключением случаев, когда проведение химиотерапии противопоказано ввиду серьезной сопутствующей патологии. После операции по поводу местно-распространённого опухолевого процесса также показано назначение адъювантной химиотерапии. Несмотря на то, что успехи комбинированного лечения с в улучшении отдалённых результатов лечения, хирургическое лечение обладает важной ролью в лечении больных операбельными РЖ.

Исследование MAGIC показало, что среди пациентов, получивших только хирургическое лечение, ОБ у пациентов с MSI-статусов была значительно выше (медиана ОБ не достигнута) по сравнению с пациентами с MSS-статусом (медиана ОБ-20,3 месяца) (ОР=0,35; 95%ДИ=0,11-1,11; p=0,08) [159]. Y.Y. Choi и соавт. в анализе исследования CLASSIC отметили, что среди больных, получивших только хирургическое лечение, также отмечались более высокие показатели БРВ у больных с MSI-статусом по сравнению с пациентами с MSS-статусом [36].

Fang и соавторы также сообщили о похожих результатах. В частности, после радикального хирургического лечения пациенты с MSI-статусом имели более высокие отдаленные результаты. При сравнении групп пациентов с MSI и MSS-статусом 3-летняя БРВ составила 71,8% и 55,2% соответственно (ОР 0,57; 95%ДИ 0,31-1,02; $p=0,07$), а 5-летняя ОВ составила 68% и 47,6%, соответственно (ОР=0,51; 95%ДИ 0,27-0,93; $p=0,03$) [53].

Kim и соавт. в исследовании выявили более высокие показатели выживаемости при II и III стадиях РЖ у больных с MSI статусом [80]. В нашем исследовании также у 2 пациентов с II стадией РЖ и MSI статусом после операции не выявлено прогрессирования заболевания спустя 19 и 23 месяца соответственно. Beghelli и соавт. также подтвердили, что при II стадии заболевания пациенты с MSI-статусом имели более высокие показатели ОВ (ОР=0,3; 95%ДИ= 0,1-0,8; $p=0,011$) [21].

В другом исследовании на большой группе пациентов была проанализирована выживаемость у больных РЖ в зависимости от молекулярного подтипа [42]. У пациентов с ВЭБ-ассоциированным РЖ отмечались самые высокие показатели выживаемости, далее следовали пациенты с MSI-статусом.

В нашей работе мы не смогли получить статистически достоверные данные ввиду, вероятно, малого количества пациентов и короткого периода наблюдения за пациентами. В связи с этим мы использовали открытую базу данных исследования ACRG, из которой выбрали пациентов, получивших только хирургическое лечение и проанализировали отдаленные результаты их лечения в зависимости от MSI-фенотипа. В результате данного анализа мы получили статистически достоверные данные, что пациенты с местно-распространенным РЖ с фенотипом MSI имели лучшие результаты лечения при только хирургическом лечении. Результаты представлены на рисунках 9 и 10 [42].

При анализе группы только хирургического лечения, по нашим данным, мы не выявили статистически значимых различий. Мы не получили результаты, схожие с другими исследованиями, такими как MAGIC и CLASSIC, но это может быть связано с тем, что среди наших больных, получивших только хирургическое

лечение, в группе с MSS-статусом стадии заболевания была достоверно меньше, чем в группе MSI. Сравнить между собой у больных с MSI-статусом и MSS-статусом не представлялось возможным, так как исходная стадия заболевания существенно различалась.

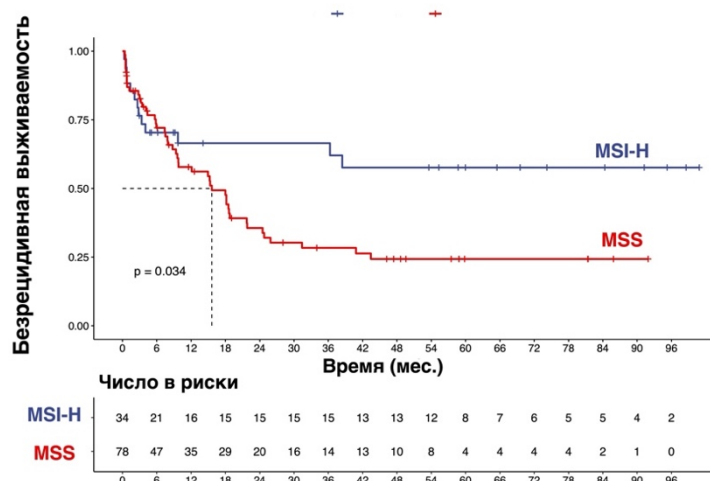


Рисунок 9 - Безрецидивная выживаемость пациентов ACRG, получивших только хирургическое лечение, в зависимости от MSI-статуса

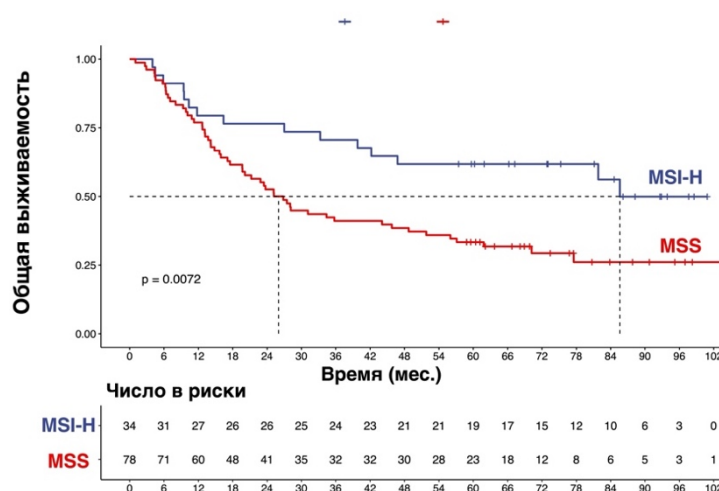


Рисунок 10 - Общая выживаемость пациентов ACRG, получивших только хирургическое лечение, в зависимости от MSI-статуса

В нашем исследовании пациенты не получили адъювантную химиотерапию, либо по причине ранней стадии заболевания, не требующей проведения химиотерапии, либо ввиду отягощенного состояния пациентов после операции, не позволяющего провести химиотерапию. Исходя из этого, мы не можем отвергать, что MSI-статус является позитивным прогностическим фактором у больных раком желудка, получивших только хирургическое лечение.

3.4 Результаты лечения пациентов резектабельным рака желудка, получивших хирургическое лечение с химиотерапией в зависимости от MSI-статуса

3.4.1 Общая характеристика пациентов

В исследование был включен 321 пациент. Всем пациентам было выполнено хирургическое лечение в комбинации с химиотерапией. MSI-статус был выявлен у 26 из 321 пациентов (8,10%). Медиана возраста для группы пациентов с MSS-опухолями составила 62 года (в диапазоне от 24 до 80 лет), а для группы с опухолями с MSI-статусом – 63,5 лет (в диапазоне от 31 до 76 лет), различия не были статистически значимы ($p = 0,47$). Другие клинικο-демографические характеристики пациентов, получивших химиотерапию, представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Общая характеристика пациентов, получивших хирургическое лечение с последующей адъювантной химиотерапией

	MSS-статус (n=295)	MSI-статус (n=26)	Значимость (p-value)
Медиана возраста, лет (диапазон)	62 (24-80)	63,5 (31-76)	0,35
Пол, n (%)			
Мужской	180 (61,0%)	13 (50,0%)	0,27
Женский	115 (39,0%)	13 (50,0%)	

Локализация опухоли, n (%)			
Верхняя треть/ Тотальное поражение	46 (15,6%)	1 (3,8%)	0,10
Средняя треть/ Нижняя треть	249 (84,4%)	25 (96,2%)	
Клиническая стадия, n (%)			
cTNM, n (%)			
cT1	8 (2,7%)	0	<0,001
cT2	50 (16,9%)	2 (7,69%)	
cT3	121 (41,0%)	10 (38,46%)	
cT4a	109 (36,9%)	9 (34,62%)	
cT4b	7 (2,5%)	5 (19,23%)	
cN0	72 (24,41%)	4 (15,38%)	0,29
cN+	223 (75,59%)	22 (84,62%)	
Стадия, n (%)			
I	29 (9,83%)	1 (3,85%)	0,052
IIA	32 (10,85%)	0	
IIB	43 (14,58%)	4 (15,38%)	
III	183 (62,03%)	18 (69,23%)	
IVA	8 (2,71%)	3 (11,54%)	
Гистологический тип по Lauren, n (%)			
Кишечный	138 (46,78%)	16 (61,54%)	0,148
Диффузный/Смешанный/Не определен	157 (53,22%)	10 (38,46%)	
Степень злокачественности, n (%)			
Высокая	141 (47,80%)	12 (46,15%)	0,577
Низкая	121 (41,02%)	13 (50,0%)	
Нет данных	33 (11,19%)	1 (3,85%)	
HER-2/neu статус, n (%)			
Отрицательный	157 (53,22%)	17 (65,38%)	0,971
Положительный	19 (6,44%)	2 (7,69%)	
Не определен	119 (40,34%)	7 (26,92%)	

В таблице представлены основные характеристики пациентов, которые были включены в исследование. Такие факторы, как пол, возраст, гистологический подтип опухоли и степень злокачественности не показали статистически значимой корреляции с MSI-статусом.

3.4.2 Общая характеристика проведённого химиотерапия

В таблице 18 представлены результаты лечения больных с различным статусом микросателлитной нестабильности, получивших периоперационную и адъювантную химиотерапию. Из группы пациентов с MSS-статусом, 251 пациент получил периоперационную химиотерапию, 44 пациента - адъювантную химиотерапию. Среди пациентов с MSI-статусом, 21 пациент получил периоперационную химиотерапию, и лишь 5 пациентов получили адъювантную химиотерапию.

Таблица 18 – Характер химиотерапии в зависимости от MSI-статуса

Периоперационная химиотерапия, n (%)	MSS-статус, n=251	MSI-статус, n=21
FLOT/ FOLFIRINOX	235 (93,63%)	16 (76,19%)
XELOX/ FOLFOX	16 (6,37%)	5 (23,81%)
Проведены все курсы периоперационной ХТ	241 (96,02%)	18 (85,71%)
Прогрессирование после ХТ	15 (5,98%)	6 (28,57%)
Адъювантная химиотерапия, n (%)	MSS-статус, n=44	MSI-статус, n=5
FLOT	3 (6,82%)	0
XELOX	37 (84,09%)	5 (100%)
FOLFOX	3 (9,09%)	0
Проведены все курсы адъювантной ХТ	25 (56,82%)	2 (40%)

3.4.3 Отдалённые результаты лечения

В таблице 19 представлены отдалённые результаты комбинированного лечения у больных с различным MSI-статусом.

Таблица 19 – Отдалённые результаты комбинированного лечения у больных с различным MSI-статусом.

	MSS-статус (n=295)	MSI-статус (n=26)
Медиана наблюдения, месяцы (диапазон)	16 (1-59)	14,5 (3-38)
6-месячная БРВ (%)	92,7%	73,1%
12-месячная БРВ (%)	82,9%	59,0%
6-месячная ОВ (%)	97,1%	88,3%
12-месячная ОВ (%)	90,0%	78,7%

При анализе БРВ в группе пациентов с MSI-статусом, получивших химиотерапию, медиана БРВ не достигнута, в то время как у пациентов с MSS-статусом медиана БРВ составила 34 месяцев (95%ДИ= 31,17-36,8) (ОР=0,56; 95%ДИ= 0,30-1,06; $p=0,075$) (Рисунок 11).

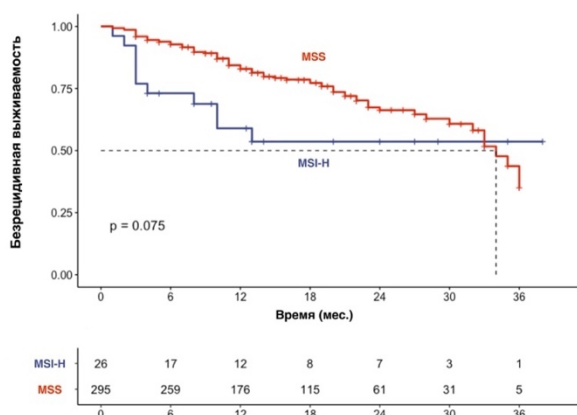


Рисунок 11 – Безрецидивная выживаемость у больных резектабельным РЖ, получивших комбинированное лечение (химиотерапия и хирургическое лечение), в зависимости от MSI-статуса

Медиана ОБ в группе MSI не достигнута, а медиана БРВ в группе пациентов с MSS-статусом составила 58 месяца (95% ДИ=46,42-69,58) (ОР=0,36, 95% ДИ = 0,17-0,74, $p=0.005$) (Рисунок 12)

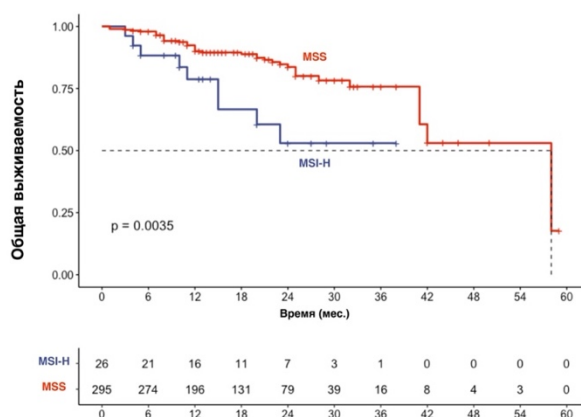


Рисунок 12 – Общая выживаемость у больных резектабельным РЖ, получивших комбинированного лечение (химиотерапия и хирургическое лечение), в зависимости от MSI-статуса

3.5 Результаты лечения пациентов резектабельным раком желудка, получивших хирургическое лечение с адъювантной химиотерапией в зависимости от MSI-статуса

3.5.1 Общая характеристика пациентов

В исследование было включено 49 пациентов, всем пациентам было выполнено хирургическое лечение с последующей адъювантной химиотерапией. MSI-статус был выявлен у 5 из 49 пациентов (10.2%). Мы провели сравнительную характеристику исследуемых групп для оценки их сопоставимости по ключевым параметрам. Данные представлены в таблице 20.

Как было представлено выше в таблице 11, у всех пациентов с MSI-статусом были выявлены метастазы в лимфатических узлах, в то время как у 10 из 44 пациентов (22,73%) с MSS-статусом опухоли не было выявлено метастазов в

удаленных лимфатических узлах. MSI-статус чаще встречался среди пациентов мужского пола, медиана возраста в этой группе пациентов была ниже, чем среди пациентов с MSS-статусом. Также мы видим, что все MSI опухоли локализовались в средней или нижней трети желудка, и у этих опухолей не встречался положительный HER2/neu-статус.

Таблица 20 – Общая характеристика пациентов, получивших хирургическое лечение с последующей адъювантной химиотерапией

	MSS-статус, n=44	MSI-статус, n=5
Медиана возраста, лет (диапазон)	60,5 (28-74)	52 (31-74)
Пол, n (%)		
Мужской	24 (54,55%)	3 (60%)
Женский	20 (45,45%)	2 (40%)
Стадия pTNM, n (%)		
pT1	4 (9,09%)	0
pT2	5 (11,35%)	0
pT3	18 (32,73%)	1 (20%)
pT4a	13 (29,54%)	3 (60%)
pT4b	4 (9,09%)	1 (20%)
pN0	10 (22,73%)	0
pN+	34 (77,27%)	5 (100%)
Стадия, n (%)		
IA/IB	3 (6,82%)	0
IIA/IIБ	19 (43,18%)	2 (40%)
IIIA	9 (20,45%)	2 (40%)
IIIB	8 (18,19%)	1 (20%)
IIIC	5 (11,36%)	0
Локализация опухоли, n (%)		
Верхняя треть/ Тотальное поражение	3 (6,82%)	0
Средняя треть	22 (50%)	2 (40%)
Нижняя треть	19 (43,18%)	3 (60%)

Тип опухоли по Lauren, n (%)		
Кишечный тип	21 (47,73%)	3 (60%)
Диффузный тип	16 (36,36%)	1 (20%)
Смешанный тип	6 (13,64%)	1 (20%)
Нет данных	1 (2,27%)	0
Степень злокачественности, n (%)		
Высокая степень	35 (79,55%)	3 (60%)
Низкая степень	9 (20,45%)	2 (40%)
Периневральная инвазия, n (%)	21 (47,73%)	2 (40%)
Васкулярная инвазия, n (%)	10 (22,73%)	1 (20%)
HER2/neu статус, n (%)		
Отрицательный	20 (45,45%)	4 (80%)
Положительный	5 (11,36%)	0
Не определен	19 (43,18%)	1 (20%)

3.5.2 Общая характеристика проведённого лечения

В таблице 21 представлены результаты хирургического лечения и адъювантной химиотерапии в группах больных с различным статусом микросателлитной нестабильности.

В данной исследуемой группе пациенты получили хирургическое лечение в объёме гастрэктомии или дистальной субтотальной резекции желудка. В дополнение к этому одному из пациентов в группе с MSI статусом была выполнена атипичная резекция печени по поводу подозрения на её инвазию первичной опухолью, а в группе пациентов с MSS-статусом у 2 из 44 пациентов (4,55%) была выполнена комбинированная или симультантная операция: в 1 случае - атипичная резекция печени, в 1 случае - дистальная резекция поджелудочной железы со спленэктомией. При гистологическом исследовании операционного материала ни у одного пациента не было выявлено положительного края резекции (R1).

Таблица 21 – Характер хирургического лечения в зависимости от статуса микросателлитной нестабильности

	MSS-статус, n=44	MSI-статус, n=5
Вид хирургического лечения, n (%)		
Гастрэктомия	30 (68,18%)	3 (60%)
Дистальная субтотальная резекция желудка	14 (31,82%)	2 (40%)
Комбинированные операции, n (%)	2 (4,55%)	1 (20%)
Частота послеоперационных осложнений, n (%)	3 (6,82%)	0
Край резекции, R1, n (%)	0	0
Схема адъювантной химиотерапии, n (%)		
FLOT	3 (6,82%)	0
XELOX	37 (84,09%)	5 (100%)
FOLFOX	4 (9,09%)	0

В качестве адъювантной химиотерапии пациенты с MSI статусом опухоли получили химиотерапию по схеме XELOX, а пациенты с MSS-статусом получали химиотерапию по схеме FLOT (3 пациента), FOLFOX (4 пациента), XELOX (37 пациентов).

3.5.3 Отдалённые результаты лечения

В таблице 22 представлены отдалённые результаты хирургического лечения с адъювантной химиотерапией у больных с различным статусом микросателлитной нестабильности.

Медиана БРВ в группе пациентов с MSS-статусом составила 32 месяца (95% ДИ=27.21-36.78), в группе MSI не достигнута (HR=1.45, 95% ДИ = 0.33-6.37, $p=0.62$). При анализе ОВ ее медиана в группе больных с MSS-статусом составила 42 месяца (95% ДИ= 30.71-53.28), а в группе больных с MSI-статусом не достигнута (HR= 2.62, 95% ДИ=0.54-12.6, $p=0.23$). Сравнение показателей БРВ и ОВ представлено на рисунках 13 и 14.

Таблица 22 – Отдалённые результаты лечения больных, получивших хирургическое лечение с адъювантной химиотерапией, в зависимости от статуса MSI

	MSS-статус (n=44)	MSI-статус (n=5)
Медиана наблюдения, месяцы (диапазон)	25 (8-59)	23 (14-29)
6-месячная БРВ (%)	95,5%	100%
12-месячная БРВ (%)	86,3%	60%
24-месячная БРВ (%)	63,30%	60%
6-месячная ОВ (%)	100%	100%
12-месячная ОВ (%)	88,4%	100%
24-месячная ОВ (%)	85,13%	50%

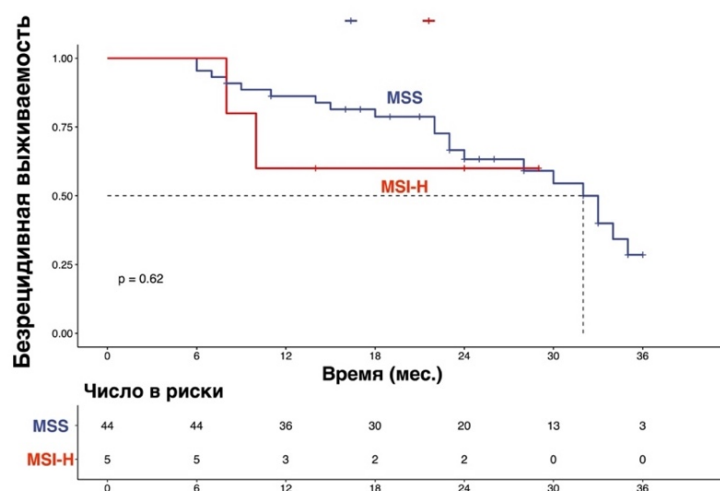


Рисунок 13 – Безрецидивная выживаемость у больных резектабельным РЖ, получивших хирургическое лечение с адъювантной химиотерапией, в зависимости от MSI-статуса

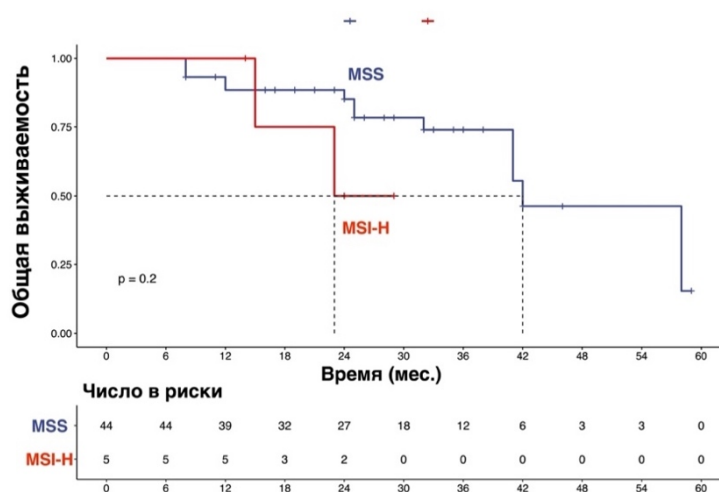


Рисунок 14 – Общая выживаемость у больных резектабельным РЖ, получивших хирургическое лечение с адъювантной химиотерапией, в зависимости от MSI-статуса

3.5.4 Обсуждение

Хирургическое лечение с адъювантной химиотерапией было стандартном лечения больных с местно-распространенным раком желудка до публикации результатов исследования MAGIC. На сегодняшний день, адъювантная химиотерапия по схеме капецитабин (или S1) в комбинации с оксалиплатином является текущим стандартом лечения для уменьшения риска рецидива и улучшения выживаемости после радикальной резекции желудка с лимфодиссекцией D2 у больных раком желудка II или III стадии [19,119,149,151,177]. Однако примерно у 40% пациентов после резекции желудка, получивших адъювантную химиотерапию, всё равно развивается прогрессирование заболевания [119,151,185]. Таким образом, в настоящее время актуальным представляется разработка прогностических инструментов, способных идентифицировать пациентов, которые получают пользу от адъювантной химиотерапии.

Предыдущие исследования показали, что dMMR/MSI-статус коррелирует с улучшением выживаемости при операбельном раке толстой кишки и служит

предиктором плохого ответа на адъювантную химиотерапию у больных раком толстой кишки II стадии [143,150]. Актуальным является вопрос о том, может ли dMMR/MSI-статус служить предиктором для выявления пациентов, которые реагируют на адъювантную химиотерапию.

Ап и соавт. провели ретроспективное исследование среди 1990 пациентов РЖ, из которых 54 пациента со II/III стадией заболевания были включены в анализ по адъювантной химиотерапии с 5-фторурацилом [12]. Это исследование показало, что пациенты с опухолями, имеющими статус MSI, не получили пользы от дополнительной химиотерапии по сравнению с группой пациентов с MSS-статусом опухолями.

Напротив, Tsai и соавторы в подгрупповом анализе показали, что при III стадии заболевания пациенты с MSS-статусом после хирургического лечения и адъювантной химиотерапии имели более низкие показатели БРВ, чем пациенты с MSI статусом (3 летняя БРВ 33,2% по сравнению с 59,9%, HR=2,63; 95%ДИ=1,66-4,17; $p<0,0001$), также как и показатели ОБ (3-летняя ОБ 38,6% по сравнению с 65,5%, HR=2,68; 95%ДИ=1,67-4,31; $p<0,0001$) [167]. Схожие результаты получили в исследовании ITACA-S, где также в подгрупповом анализе было показано, что при адъювантной химиотерапии после хирургического лечения пациенты с MSI-статусом имели лучшие показатели общей и безрецидивной выживаемости, чем пациенты с MSS-статусом (3-летняя БРВ 79,2% по сравнению с 49,2%, HR=0,43; 95%ДИ=0,21-0,88; $p=0,02$); 5-летняя ОБ 73,5% по сравнению с 44,5%, HR=0,4; 95%ДИ=0,19-0,87; $p=0,02$) [47]. В исследовании ARTIST было показано, что при адъювантной химиотерапии после хирургического лечения пациенты с MSS-статусом имели хуже показатели БРВ, чем пациенты с MSI-статусом (3-летняя БРВ 76,3% по сравнению с 85,4%, HR=2,0; 95%ДИ=0,81-4,92; $p=0,131$), а также показатели ОБ (3-летняя ОБ 81,7% по сравнению с 91,4%, HR=3,04; 95%ДИ=0,96-9,60; $p=0,058$).

В 2019 году, Pietrantonio и соавт. сообщили о результатах анализа данных пациентов из четырех рандомизированных исследований (MAGIC, CLASSIC, ITACA-S, ARTIST) [132]. Их результаты показали, что больные раком желудка с

MSI-статусом не получают пользу от адъювантной химиотерапии. Однако, небольшой размер выборки в исследовании Pietrantonio значительно снизил его статистическую достоверность, что ограничило возможности изменения рекомендаций по определению показаний к адъювантной химиотерапии на основании статуса MSI [132]. При колоректальном раке Cohen и соавторы сообщили, что добавление оксалиплатина к фторпиримидину значительно улучшило ОВ у пациентов с MSI-статусом опухоли при III стадии заболевания, подчеркнув важность адъювантной химиотерапии на основе препаратов платины [37]. Другое исследование, включающее в себя 162 пациента с II/III стадией РЖ с MSI-статусом, показало, что проведение адъювантной химиотерапии может увеличить выживаемость этой группы пациентов. Авторы при этом считают, что добавление препаратов платины оказывает отрицательное влияние при раке желудка MSI [77].

В нашем исследовании мы не стали анализировать выживаемость у пациентов с MSI при только хирургическом лечении или комбинации хирургического лечения с адъювантной химиотерапией по причине заведомой разнородности обеих групп. Пациенты, которые получили только хирургическое лечение, имели преимущественно ранние стадия заболевания, либо в случае местно-распространённого процесса по какой-либо причине не смогли получить адъювантную химиотерапию.

Несмотря на то, что в исследовании CLASSIC было доказано, что пациенты с MSI-статусом не получают пользу от адъювантной химиотерапии, в подгрупповом анализе среди пациентов, которые получили адъювантную химиотерапию после операции, у больных с MSI-статусом не отмечались более высокие показатели выживаемости (без указания статистической значимости).

В нашем исследовании мы не получили различий в результатах лечения в зависимости от MSI-статуса в группе пациентов комбинированного лечения (хирургическое лечение + адъювантная химиотерапия), вероятно ввиду очень малого количества пациентов, включенных в исследование, и короткого периода наблюдения.

На основании вышеуказанных данных мы не можем рекомендовать отказаться от проведения адъювантной химиотерапии у больных операбельным РЖ с фенотипом MSI.

Один дискуссионный вопрос, который может возникнуть, заключается в том, является ли адъювантная химиотерапия оптимальной терапевтической стратегией для пациентов РЖ с MSI-статусом. Признано, что опухоли с MSI-статусом часто связаны со многими соматическими мутациями, которые кодируют «чужие» иммуногенные неоантигены. Эти опухоли характеризуются значительной инфильтрацией иммунными клетками и высоким уровнем опухолевой мутационной нагрузкой, что делает их высоко восприимчивыми к иммунотерапии. Использование анти-PD-1 препаратов продемонстрировало клиническую пользу для пациентов с MSI-статусом независимо от типа опухоли [13,90,91]. На основании результатов исследования KEYNOTE-059, которые показали высокую частоту объективного ответа у больных РЖ с MSI-статусом (общий ответ - 57% случаев, 4 из 7 пациентов), пембролизумаб был одобрен в качестве второй линии терапии для этих пациентов [55]. Два клинических исследования II фазы, включавших пациентов РЖ и получавших пембролизумаб в качестве второй или более поздней линии лечения, также продемонстрировали высокую частоту объективного ответа у пациентов с MSI-статусом (общий ответ - 85,7% случаев (6 из 7 пациентов) и 45,8% случаев (11 из 24) пациентов соответственно) [79,102]. Исходя из этих предпосылок, адъювантное лечение с использованием ингибиторов PD-1 теоретически может быть лучше химиотерапии для больных РЖ с MSI-статусом после радикальной операции.

3.6 Результаты лечения больных, получивших периоперационную химиотерапию, в зависимости от MSI-статуса

3.6.1 Общая характеристика пациентов

В исследование было включено 272 пациента, получивших периоперационную химиотерапию: 251 (87,70%) пациент имел MSS-статус опухоли, 21 (7,72%) пациент – MSI-статус. Медиана возраста для группы пациентов с MSS-опухолями составила 62 года (в диапазоне от 24 до 80 лет), а для группы с опухолями с MSI-статусом - 65 лет (в диапазоне от 52 до 76 лет) ($p = 0,47$). Другие клинико-демографические характеристики пациентов, получивших периоперационную химиотерапию, представлены в таблице 23.

Таблица 23 – Характеристики пациентов, получивших периоперационную химиотерапию, в зависимости от MSI-статуса

	MSS-статус (n=251)	MSI-статус (n=21)	Значимость (p-value)
Медиана возраста, лет (диапазон)	62 (24-80)	65 (52-76)	0,47
Пол, n (%)			
Мужской	156 (62,15%)	10 (47,62%)	0,19
Женский	95 (37,85%)	11 (52,38%)	
Клиническая стадия, n (%)			
cTNM, n (%)			
cT1	3 (1,19%)	0	0,001
cT2	41 (16,33%)	2 (9,52%)	
cT3	103 (41,04%)	7 (33,33%)	
cT4a	99 (39,45%)	8 (38,1%)	
cT4b	5 (1,99%)	4 (19,05%)	
cN0	51 (20,32%)	2 (9,52%)	0,23
cN+	200 (79,68%)	19 (90,48%)	

Стадия, n (%)			
I	20 (7,97%)	1 (4,76%)	0,174
IIA	24 (9,56%)	1 (4,76%)	
IIB	31 (12,35%)	1 (4,76%)	
III	171 (68,13%)	14 (66,67%)	
IVA	5 (1,99%)	4 (19,05%)	
Локализация опухоли, n (%)			
Верхняя треть/ Тотальное поражение	45 (17,93%)	1 (4,76%)	0,12
Средняя треть/ Нижняя треть	141 (56,18%)	12 (57,14%)	
Гистологический тип по Lauren, n (%)			
Кишечный	117 (46,61%)	13 (61,90%)	0,166
Диффузный/Смешанный/Не определен	134 (53,39%)	8 (38,10%)	
Степень злокачественности, n (%)			
Высокая	186 (74,10%)	17 (80,95%)	0,877
Низкая	40 (15,94%)	4 (19,05%)	
Нет данных	25 (9,96%)	0	
HER-2/neu статус, n (%)			
Отрицательный	137 (54,58%)	13 (61,90%)	0,672
Положительный	15 (5,98%)	2 (9,53%)	
Не определен	99 (39,44%)	6 (28,57%)	

В таблице представлены основные характеристики пациентов, которые были включены в исследование. Такие факторы, как пол, возраст, гистологический подтип опухоли и степень злокачественности не показали статистически значимой корреляции с MSI-статусом. В обеих исследуемых группах наиболее часто встречались пациенты с III клинической стадией заболевания (cTNM). Следует отметить, что наличие MSI-статуса опухоли было ассоциировано с кишечным подтипом и наличием высокой степени злокачественности.

3.6.2 Общая характеристика проведенного лечения

Результаты лечения пациентов были проанализированы в зависимости от вида проведенного лечения и MSI-статуса опухоли (Таблица 24). Несмотря на то, что все исследуемые пациенты получили современные схемы периоперационной химиотерапии, у 6 из 21 (28,57%) пациентов в группе с MSI-статусом отмечено прогрессирование заболевания, что было значительно чаще, чем в группе пациентов с MSS-статусом, где прогрессирование было выявлено только у 15 (5,98%) из 251 больных. Ни у одного из пациентов с MSI-статусом после предоперационной химиотерапии не было достигнуто значительного патоморфологического ответа (степень TRG 1 или 2), тогда как среди пациентов с MSS-опухолями он был отмечен в 32 (13,56%) случаях из 236 ($p=0,008$).

Таблица 24 – Непосредственные результаты периоперационного лечения больных в зависимости от MSI-статуса опухоли

	MSS-статус опухоли(n=251)	MSI-статус опухоли (n=21)	Значимость (p-value)
Режим периоперационной ХТ			
FLOT/ FOLFIRINOX	235 (93,63%)	16 (76,19%)	0,004
XELOX/ FOLFOX	16 (6,37%)	5 (23,81%)	
Проведены все курсы периоперационной ХТ	241 (96,02%)	18 (85,71%)	0,33
Прогрессирование после ХТ	15 (5,98%)	6 (28,57%)	<0,001
Пациенты, получившие хирургическое лечение	MSS (n=236)	MSI (n=15)	
ypT0	32 (13,56%)	0	0,005
ypT1	21 (8,90%)	1 (6,67%)	
ypT2	55 (23,31%)	2 (13,33%)	
ypT3	74 (31,36%)	9 (60,0%)	
ypT4a	35 (14,83%)	0	
ypT4b	8 (3,39%)	3 (20,0%)	

Продолжение таблицы 24

ypN0	126 (53,39%)	9 (60,0%)	0,61
ypN+	110 (46,61%)	6 (40,0%)	
Стадия после неоадьювантной терапии, n (%)			
0	32 (13,56%)	0	0,729
IA	24 (10,17%)	1 (6,67%)	
IB	36 (15,25%)	2 (13,33%)	
IIA	43 (18,22%)	3 (20,0%)	
IIB	37 (15,68%)	4 (26,67%)	
IIIA	40 (16,95%)	3 (20,0%)	
IIIB	14 (5,93%)	2 (13,33%)	
IIIC	10 (4,24%)	0	
Края резекция			
R0	226 (95,76%)	13 (86,67%)	0,109
R1	10 (4,24%)	2 (13,33%)	
Периневральная инвазия, n (%)	92 (38,98%)	7 (46,67%)	0,55
Лимфоидная инфильтрация, n (%)	54 (22.88%)	5 (33.33%)	0,35
Васкулярная инвазия, n (%)	50 (21.19%)	3 (20.0%)	0,90
Степень лечебного патоморфоза TRG, n (%)			
TRG-1	32 (13,56%)	0	0,008
TRG-2	27 (11,44%)	0	
TRG-3	57 (24,15%)	0	
TRG-4	70 (29,66%)	6 (40,0%)	
TRG-5	38 (16,0%)	7 (46,67%)	
TRG-нет данных	12 (5,08%)	2 (13,33%)	

Практически у всех пациентов с MSI опухолями был отмечен крайне слабо выраженный лечебный патоморфоз после неоадьювантного блока периперационной химиотерапии. В частности, из 15 прооперированных пациентов оценка лечебного патоморфоза была проведена у 13 пациентов, из которых в 6 случаях был отмечен лечебный патоморфоз степени TRG-4, а в 7

случаях лечебный патоморфоз отсутствовал (TRG-5), что указывает на то, что даже современные схемы периоперационной химиотерапии являются неэффективными в данной группе пациентов.

После хирургического лечения у 182 пациентов был начат адъювантный этап химиотерапии. 157 пациентов из 251 (62,5%) получили адъювантную химиотерапию в полном объёме, из которых пациентов с MSS-статусом было 151 (60,16% от общего количества больных с MSS-статусом), а с MSI-статусом - 6 (28,57% от общего количества больных с MSI-статусом).

3.6.3 Отдалённые результаты комбинированного лечения

Медиана наблюдения за пациентами составила 12,5 месяцев. Для группы пациентов с MSS-статусом медиана БРВ составила 36 месяцев (95%ДИ= 24,4-48,5), в то время как у пациентов с MSI-статусом, получивших химиотерапию, она не достигнута (ОР=2,18; 95%ДИ= 1,06-4,45; $p=0,027$) (Рисунок 15). 6-, 12- и 24-месячная БРВ и ОВ в каждой группе указана в таблице 25.

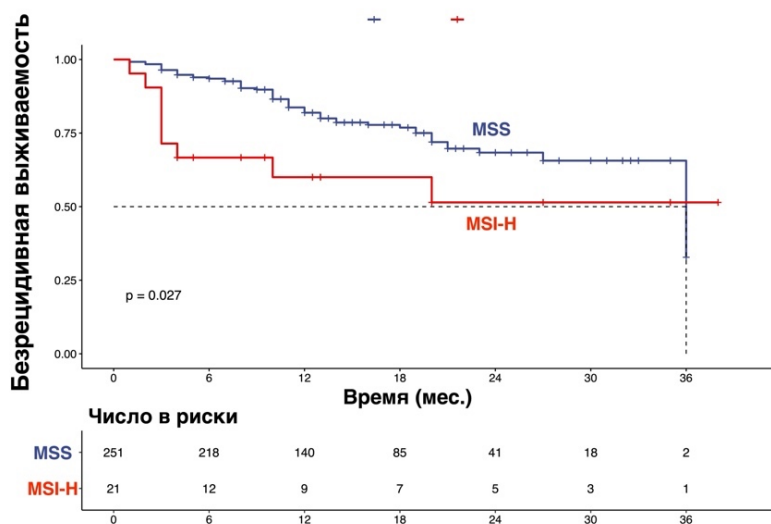


Рисунок 15 - Безрецидивная выживаемость у больных резектабельным РЖ, получивших периоперационную химиотерапию, в зависимости от MSI-статуса

Таблица 25 – Отдалённые результаты лечения больных в зависимости от MSI-статуса опухоли

	MSS (n=251)	MSI (n=21)
Медиана наблюдения (диапазон) (мес.)	13 (1-36)	9,5 (1-38)
6-месячная БРВ (%)	93,5%	66,7%
12-месячная БРВ (%)	81,9%	60,0%
24-месячная БРВ (%)	68,4%	51,4%
6-месячная ОВ (%)	97,6%	85,45%
12-месячная ОВ (%)	90,48%	78,88%
24-месячная ОВ (%)	83,27%	62,10%

Медианы ОВ не достигнуты ни в одной из подгрупп, при этом различия между группами были статистически достоверны (ОР=2,7; 95%ДИ= 1,12-6,52; $p=0,021$) (Рисунок 16).

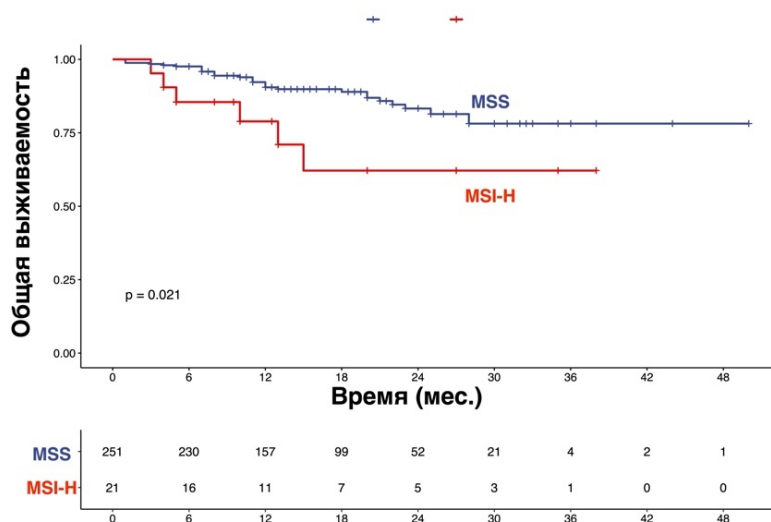


Рисунок 16 - Общая выживаемость у больных резектабельным РЖ, получивших периоперационную химиотерапию, в зависимости от MSI-статуса

Принимая во внимание тот факт, что исходная стадия заболевания различалась между исследуемыми подгруппами (доля пациентов с MSI-статусом с клинической стадией IVA была больше (19,5%), чем пациентов с MSS-статусом (1,99%)), мы провели анализ БРВ и ОВ среди всех пациентов без учёта клинической стадии IVA. Результаты анализа представлены на рисунках 17 и 18.

Мы видим, что среди пациентов с MSS-статусом общая выживаемость была значительно выше, чем среди больных с MSI статусом.

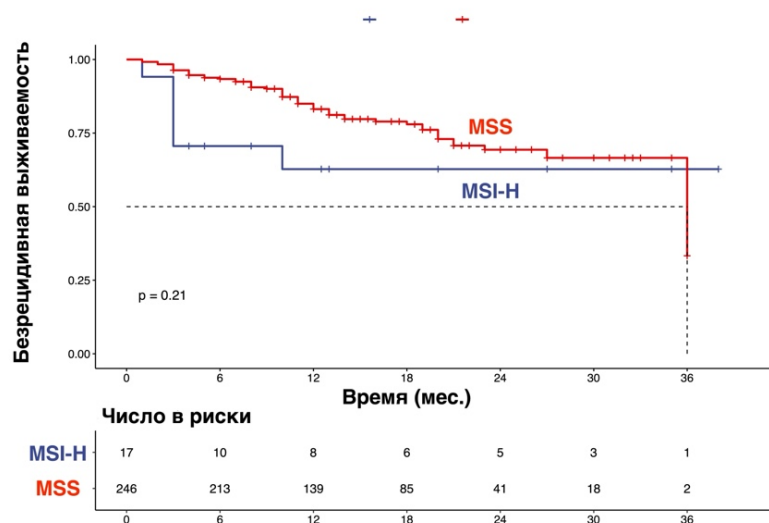


Рисунок 17 - Безрецидивная выживаемость у больных резектабельным РЖ (кроме cT4b), получивших периоперационную химиотерапию, в зависимости от MSI-статуса

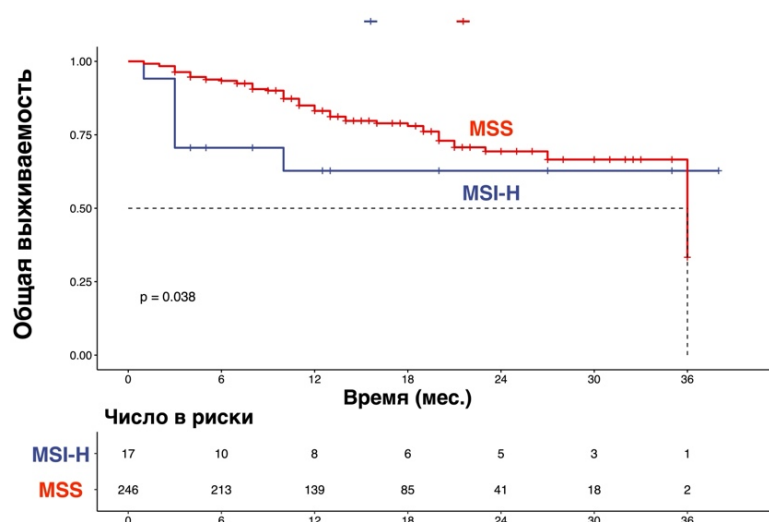


Рисунок 18 - Общая выживаемость у больных резектабельным РЖ (кроме cT4b), получивших периоперационную химиотерапию, в зависимости от MSI-статуса

Мы также проанализировали БРВ и ОВ среди тех пациентов, которые получили только современные схемы химиотерапии (схема FLOT или FOLFIRINOX), в результате анализа мы не выявили статически значимых различий в выживаемости (Рисунки 19 и 20).

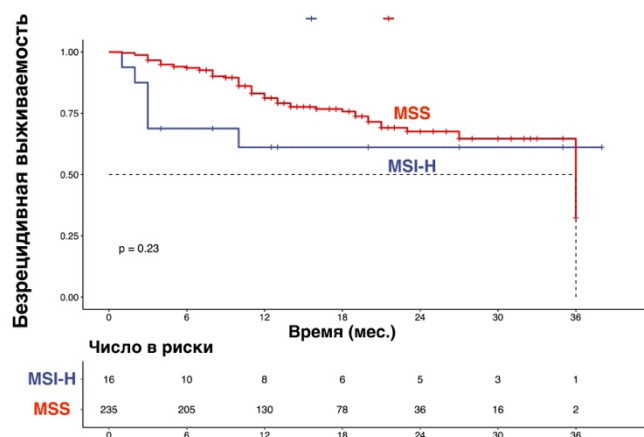


Рисунок 19 - Безрецидивная выживаемость у больных резектабельным РЖ, получивших периоперационную химиотерапию (FLOT/FOLFIRINOX), в зависимости от MSI-статуса

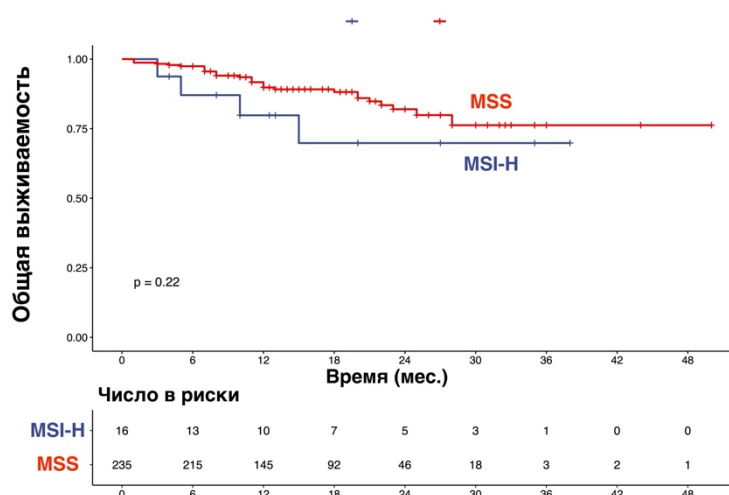


Рисунок 20 - Общая выживаемость у больных резектабельным РЖ, получивших периоперационную химиотерапию (FLOT/FOLFIRINOX), в зависимости от MSI-статуса

В дальнейшем был проведён однофакторный регрессионный анализ по Коксу для оценки влияния клинических и морфологических факторов на безрецидивную и общую выживаемость. Результаты однофакторного анализа представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Результаты однофакторного анализа прогностической значимости клинико-морфологических факторов

Фактор	Однофакторный анализ БРВ		Однофакторный анализ ОВ	
	P-value	Отношение рисков (95% ДИ)	P-value	Отношение рисков (95% ДИ)
Возраст	0,148	0,98 (0,96-1,00)	0,929	1,00 (0,96-1,03)
Пол				
-Мужской		1		1
-Женский	0,466	0,83 (0,49-1,38)	0,442	0,76 (0,38-1,53)
Статус MSI				
-MSS		1		1
-MSI	0,028*	2,22 (1,09-4,54)	0,026*	2,70 (1,12-6,53)

Клиническая Стадия				
-I/IIA	-	1	-	1
-IIB/III/IVA	0,156	1,77 (0,81-3,88)	0,392	1,57 (0,56-4,47)
Локализация опухоли				
-другие локализации	-	1	-	1
-нижняя треть	0,052	0,51 (0,26-1,01)	0,065	0,37 (0,13-1,06)
Гистологический тип по Lauren				
-Кишечный тип	-	1	-	1
-Диффузный тип	0,225	1,41 (0,80-2,47)	0,992	0,99 (0,46-2,12)
-Смешанный тип	0,446	1,34 (0,62-2,87)	0,587	2,90 (0,97-8,69)
-Не определён	0,092	2,29 (0,87-6,01)	0,056	0,71 (0,20-2,43)
Степень злокачественности				
-Низкая	-	1	-	1
-Высокая	0,522	1,26 (0,62-2,56)	0,471	0,73 (0,31-1,69)
-Нет данных	0,656	0,26 (0,23-2,50)	0,715	0,77 (0,20-3,01)
Схема ХТ				
FLOT	-	1	-	1
FOLFIRINOX	0,053	0,57 (0,32-1,01)	0,33	0,69 (0,33-1,45)
FOLFOX/XELOX	0,781	0,88 (0,34-2,22)	0,52	0,62 (0,14-2,64)

*- различия статически значимы ($p < 0.05$); 95% ДИ- 95% доверительный интервал

Как видно из таблицы, достоверное прогностическое значение при однофакторном анализе показали такие факторы как MSI-статус опухоли, локализация опухоли.

Следующим этапом был проведён многофакторный анализ для определения прогностической значимости клиничко-морфологических факторов. В анализ включались все факторы, имеющих при однофакторном анализе степень значимости $p < 0.1$. Результаты представлены на рисунках 21 и 22.

При многофакторном регрессионном анализе было выявлено, что факторами, оказывающими влияние на БРВ, являются статус MSI и локализация опухоли, а также используемая схема ХТ.

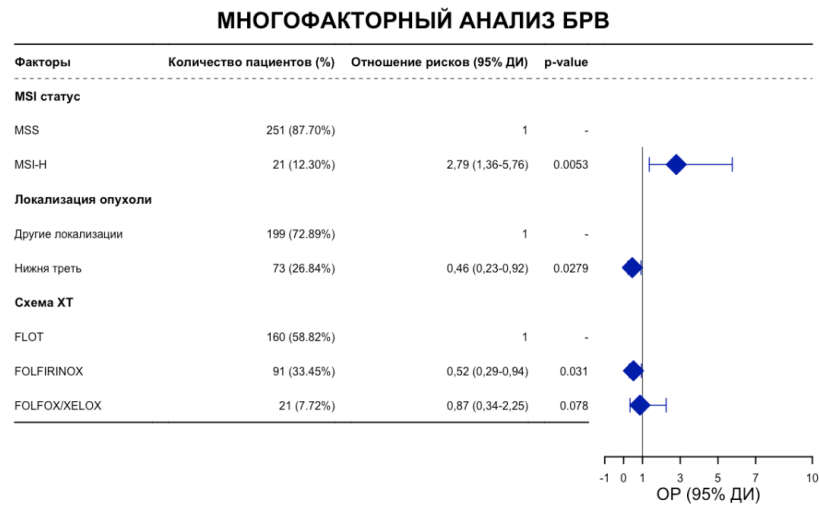


Рисунок 21 – Результаты многофакторного регрессионного анализа: влияние клинико-морфологических факторов на безрецидивную выживаемость больных, получивших периоперационную ХТ при раке желудка

При многофакторном регрессионном анализе было выявлено, что факторами, оказывающими влияние на ОВ, является статус MSI и локализация опухоли в нижней трети желудка.

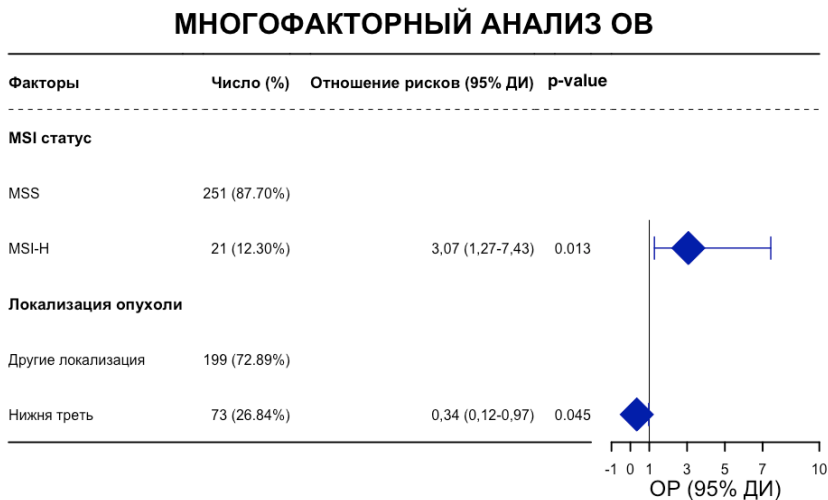


Рисунок 22 – Результаты многофакторного регрессионного анализа: влияние клинико-морфологических факторов на общую выживаемость больных, получивших периоперационную ХТ при раке желудка

3.6.4 Обсуждение

С момента публикации исследования FLOT4-AIO, периоперационная химиотерапия по схеме FLOT стала новым стандартом в лечении местно-распространённого РЖ в западных странах [8]. Схема FLOT показала свое преимущество по сравнению с комбинацией ECF. Тем не менее, 45% пациентов не получает эффекта от периоперационной химиотерапии, что подразумевает под собой прогрессирование заболевания или слабый патоморфологический ответ (включая TRG-3 по Becker) [7]. В связи с этим представляется важным поиск клинико-морфологических маркёров, которые могли бы обладать прогностической ценностью для раннего прогнозирования отсутствия лечебного эффекта от периоперационной химиотерапии. Хотя положительное прогностическое влияние MSI-статуса при местно-распространённом РЖ показано во многих исследованиях, доказательства MSI как отрицательного предиктора эффективности неoadъювантной или адъювантной химиотерапии остаются сомнительными. Действительно, на сегодняшний день в литературе отсутствуют систематические данные о клинических исходах лечения больных раком желудка с MSI-статусом в случае проведения периоперационной химиотерапии по схеме FLOT.

На основании ряда исследований среди пациентов с колоректальным раком и раком желудка считается, что наличие MSI-статуса является предиктором неэффективности химиотерапии с фторурацилом [12,36,143,150,159]. Было высказано предположение, что MSI-статус приводит к резистентности к фторурацилу, нарушая способность клеток обнаруживать повреждения ДНК и активировать их апоптоз, а также, более косвенно, за счет увеличения процентов мутаций всего генома [143].

Несмотря на то, что пациенты в нашем исследовании получили более современные режимы химиотерапии (FLOT или FOLFIRINOX) по сравнению с исследованием MAGIC, мы получили схожий результат. Исследование MAGIC показало, что назначение предоперационной химиотерапии у пациентов с MSI-

статусом не улучшает прогноз и результаты лечения и приводит к увеличению времени перед операцией, не принося никакой пользы. В подгрупповом анализе было установлено, что среди пациентов с MSI РЖ прогноз был хуже у пациентов, получивших периоперационную химиотерапию, по сравнению с пациентами, получившими только хирургическое лечение. Стоит отметить, что в исследование MAGIC не были включены те пациенты, у которых выявлялось прогрессирование болезни после периоперационного этапа химиотерапии. В нашем исследовании группа пациентов с MSI-статусом, получивших периоперационную химиотерапию, характеризовалась плохим ответом на противоопухолевое лечение - в 6 из 21 случаев (28,57%) отмечено прогрессирование заболевания после неoadьювантного этапа лечения. Среди оперированных пациентов с MSI-статусом (n=15), у 6 пациентов отмечен лечебный патоморфоз опухоли степени TRG-4, у 7 пациентов – патоморфоз степени TRG-5, у двух пациентов степень лечебного патоморфоза не оценивалась. Схожие результаты были получены в исследовании F0xTROT, где проведение неoadьювантной химиотерапии у пациентов с резектабельным колоректальным раком показало отсутствие полного лечебного патоморфоза именно в группе пациентов с MSI-статусом [153].

В 2019 году японские исследователи также опубликовали данные исследования, указывающих на негативное влияние MSI-статуса на результаты периоперационной химиотерапии [65].

Напротив, другое исследование в 2022 году показало, что среди больных с местно-распространенным раком желудка высокий уровень MSI ассоциировался с более высокой выживаемостью по сравнению с опухолями с MSS-статусом, несмотря на более худший патоморфологический ответ на химиотерапию [172]. У больных раком желудка с высоким уровнем MSI, получавших химиотерапию, выживаемость была на 9% хуже по сравнению с больными, получивших только хирургическое лечение, но химиотерапия не была существенно связана с выживаемостью. Однако, стоит отметить, что в данном исследовании анализировались только пациенты, которые получили хирургическое лечение, а те пациенты, которые не получали хирургическое лечение ввиду прогрессирования

заболевания после периоперационной химиотерапии, не были включены в статистический анализ. Другой интересный факт, что в этом исследовании ни у одного пациента не был получен значимый лечебного патоморфоз опухоли при MSI-статусе, при этом 16% (43/274) пациентов с MSS-статусом получили хороший эффект. Это данные совпадают с данными исследования MAGIC, где тоже ни у одного пациента с MSI-статусом не был получен выраженный лечебный патоморфоз по сравнению с частотой такого ответа в 15% (34/223) среди больных с MSS-статусом. Два ретроспективных исследования, где изучалась европейская популяция пациентов, также подтверждают, что опухоли с MSI-статусом практически не отвечают на периоперационную химиотерапию [62,84].

В начале 2023 года итальянские исследователи опубликовали результаты своего исследования, где вне зависимости от назначения периоперационной химиотерапии группа пациентов с MSI-статусом характеризовалась более высокими отдаленными результатами лечения [118]. При сравнении с пациентами с MSS-опухолями среди больных с опухолями с MSI-статусом отмечалась более высокая безрецидивная выживаемость (медиана не достигнута vs. 19.5 месяцев, 95%ДИ= 15,59-23,59; $p=0,031$) и общая выживаемость (медиана не достигнута vs. 34.8 месяца, 95%ДИ= 26,68-47,60; $p=0,0316$). В этом исследовании также было показано, что среди больных с MSI-статусом опухоли в 13 случаях (72,2%) из 18 был выявлен слабый патоморфологический регресс опухоли (TRG 4-5 по Mandard), что и позволяет судить о плохой эффективности периоперационной химиотерапии по схеме FLOT при опухолях с MSI статусом.

Полагаясь на эти результаты, встаёт вопрос об обоснованности назначения предоперационной химиотерапии таким пациентам. Возможно, стоит избегать добавления неоадьювантной химиотерапии у больных раком желудка с MSI-статусом ввиду ее неэффективности. Это может позволить снизить токсичность, связанную с лечением, и добиться более благоприятных отдаленных результатов. Таким образом, рассмотрение вопроса о проведении стандартной схемы

периоперационной химиотерапии, по нашему мнению, может быть рациональным лишь у пациентов с MSS-статусом.

Следует также обратить внимание на некоторые ограничения нашего исследования. Время наблюдения за пациентами в нашем исследовании относительно небольшое, и не во всех группах пациентов была достигнута медиана БРВ и ОВ. Что требует дальнейших исследований в этом направлении.

3.7 Корреляция статуса MSI с экспрессией PD-L1 (CPS)

3.7.1 Общая характеристика пациентов

Экспрессия PD-L1 (по методике определения CPS) была изучена с помощью ИГХ-исследования у 120 пациентов, из которых у 60 (50%) был резектабельный РЖ, а у 60 пациентов (50%) - диссеминированный РЖ. Частота выявления экспрессии PD-L1 составила 58,33% (70/120). Медиана возраста для группы пациентов с MSS-опухолями составила 61 года (в диапазоне от 24 до 83 лет), а для группы с опухолями с MSI-статусом - 68 лет (в диапазоне от 31 до 80 лет), различия не были статистически значимы. Определение экспрессии PD-L1 было выполнено 37 пациентам с MSI-статусом, у 29 из которых (78,38%) была выявлено наличие экспрессии PD-L1. Среди пациентов с MSS-статусом экспрессия PD-L1 была выявлена у 41 пациента (49,40%). Подробные данные предоставлены в таблице 27.

Таблица 27 – Клинико-морфологические характеристики изучаемых групп пациентов

	MSS-статус (n=83)	MSI-статус (n=37)	Значимость (p-value)
Медиана возраста, лет (диапазон)	61 (24-83)	68 (31-80)	0,38
Мужской	53 (63,86%)	20 (54,05%)	0,27
Женский	29 (36,14%)	17 (45,95%)	

Оценка PD-L1 (CPS)			
PD-L1 (CPS) =0	42 (50,6%)	8 (21,62%)	0,002
PD-L1(CPS) ≥ 1	41 (49,4%)	29 (78,38%)	
Локализация опухоли, n (%)			
Верхняя треть/ Тотальное поражение	14 (16,87%)	2 (5,41%)	0,08
Средняя треть/ Нижняя треть	68 (81,93%)	35 (94,59%)	
Клиническая стадия, cTNM, n (%)			
cT1	1 (1,20%)	2 (5,41%)	0,28
cT2	8 (9,64%)	4 (10,81%)	
cT3	23 (27,72%)	12 (32,43%)	
cT4a	48 (57,83%)	16 (43,24%)	
cT4b	2 (2,41%)	3 (8,11%)	
cN+	76 (92,77%)	28 (75,68%)	0,007
cM0	27 (32,53%)	31 (83,78%)	<0.001
cM1	56 (67,47%)	6 (16,22%)	
Стадия, n (%)			
I/IIA/IIIB	7 (8,43%)	8 (21,62%)	<0.001
III/IIIA	20 (24,10%)	23 (62,16%)	
IVB	55 (66,27%)	6 (16,22%)	
Гистологический тип по Lauren, n (%)			
Кишечный	31 (37,35%)	23 (62.16%)	0,01
Диффузный	24 (28,92%)	3 (8,11%)	
Смешанный	17 (20,48%)	8 (21.62%)	
Не определен	10 (12,05%)	3 (8,11%)	
Степень злокачественности, n (%)			
Высокая	13 (15,67%)	8 (21,62%)	0,79
Низкая	21 (25,30%)	15 (40,54%)	
Нет данных	48 (57,83%)	14 (37,84%)	

По нашим данным статус MSI ассоциирован с положительной экспрессией PD-L1, что, в свою очередь, свидетельствует об образовании большего количества

опухолевых неоантигенов ($p=0,002$). Однако при MSI-статусе также встречаются случаи низкого уровня или отсутствия экспрессии PD-L1.

3.7.2 Обсуждение

Сигнальный каскад PD-1/PD-L1 является ингибирующим фактором противоопухолевого иммунного ответа. Экспрессия PD-L1 оценивается как на опухолевых клетках, так и на опухоль-инфильтрирующих иммунных клетках (ОИИК) [32]. Однако экспрессия PD-L1 на опухоль-инфильтрирующих иммунных клетках может быть более значимой с точки зрения прогностической ценности в конкретных опухолях и ответа на иммунотерапию [83,87,181]. Однако различия в молекулярных характеристиках, включая экспрессию PD-L1 в микроокружении опухоли, могут различаться между различными типами рака [123,189,191].

По данным нашего исследования, экспрессия PD-L1 выявлена в 57,98% случаев, и эти данные сопоставимы с ранее опубликованными результатами исследований эффективности пембролизумаба в лечении больных РЖ [18,55,114,115,156,165]. Экспрессия PD-L1 использовалась в качестве общего фактора стратификации во многих клинических исследованиях и использовалась в качестве важного биомаркера при проведении иммунотерапии [17,44,70,142].

MSI представляет собой молекулярный фенотип опухоли, вызванный дефектом системы репарации ошибочно спаренных нуклеотидов (mismatch repair-deficient, dMMR), и характеризуется неспособностью репарировать мутации в микросателлитных областях. Это приводит к увеличению мутационной нагрузки, что потенциально может привести к продукции белков с ассоциированными с мутациями неоантигенами, которые увеличивают количество противоопухолевых лимфоцитов вокруг опухоли [106,144,180]. Кроме того, несколько предыдущих исследований среди больных с колоректальным раком проанализировали иммунное микроокружение опухоли и продемонстрировали, что опухоли с MSI характеризуются значительно большим количеством цитотоксических лимфоцитов, что приводит к повышенной экспрессии PD-1 и PD-L1 [131,138].

Gatalia и Inaguma сообщили, что частота экспрессии PD-L1 при колоректальном раке с MSI-статусом значительно выше, чем среди опухолей с MSS-статусом [59,144]. Было высказано предположение, что прогноз лучше у пациентов с опухолями MSI из-за повышенной лимфоцитарной инфильтрации вокруг опухолевых клеток [54,73].

MSI-статус и экспрессия PD-L1 являются клинически значимыми биомаркерами для стратификации риска и прогнозирования течения заболевания, поэтому, несмотря на низкую частоту встречаемости пациентов с микросателлитной нестабильностью, на этапе первичной диагностики необходимо проведение молекулярно-генетического исследования с целью дальнейшего планирования лечения, учитывая высокую чувствительность опухолей данного молекулярного подтипа к терапии ингибиторами контрольных точек иммунного ответа.

3.8 Результаты лечения больных резектабельным РЖ с MSI-статусом, получивших периоперационную химиоиммунотерапию

С конца 2021 года у пациентов с опухолями с MSI-статусом (обычно после 1-2 курсов предоперационной терапии) в дополнение к химиотерапии начали назначать иммунотерапию анти-PD-1 препаратами. В качестве анти-PD-1 препаратов мы использовали ниволумаб, пролголимаб или пемпролизумаб. Нельзя не отметить, что такой подход лечения не входит в актуальные клинические рекомендации, и отсутствует общепринятое решение в отношении выбора режим иммунотерапии (монорежим или в комбинации с химиотерапией). Изначально мы практиковали проведение химиоиммунотерапии в периоперационном режиме, после получения первых собственных данных о достигаемых полных патоморфологических ответах мы в последующем изменили нашу тактику, начав проводить тотальную неоадьювантную терапию.

3.8.1 Общая характеристика пациентов

В данную группу вошли 12 пациентов, из них 5 мужчин и 7 женщин. Медиана возраста составила 68 лет (диапазон: 45-80). У всех пациентов опухоли локализовались в средней или нижней трети желудка, у 8 (66,67%) из 12 пациентов выявлен кишечный тип аденокарциномы по Р. Lauren. Подробные клинико-морфологические данные предоставлены в таблице 28.

Таблица 28 – Характеристики пациентов, получивших периоперационную химио-иммунотерапию

	MSI-статус (n=12)
Медиана возраста, лет (диапазон)	68 (45-80)
Пол, n (%)	
Мужской	5 (41,67%)
Женский	7 (58,33%)
Клиническая стадия, cTNM, n (%)	
cT1	0
cT2	3 (25,00%)
cT3	4 (33,33%)
cT4a	5 (41,67%)
cN0	2 (16,67%)
cN+	10 (83,33%)
Стадия, n (%)	
I	2 (16,67%)
IIA	1 (8,33%)
III	9 (75,00%)
Гистологический тип по Lauren, n (%)	
Кишечный	8 (66,67%)
Диффузный	1 (8,33%)
Смешанный	3 (25,00%)

Степень злокачественности, n (%)	
Высокая	5 (41,67%)
Низкая	7 (58,33%)

Добавление иммунотерапии не сопровождалось значимым ростом токсичности. Иммуноопосредованные побочные явления были только 1-2 степени и включали развитие тиреоидита (2 пациента) и диареи (1 пациент).

На момент исследования из 12 больных 7 пациентам была выполнена гастрэктомия, 5 пациентам – дистальная субтотальная резекция желудка. По данным гистологического исследования операционного материала у 6 пациентов отмечен полный патоморфологический регресс опухоли (TRG-1), в 2 случаях – степени TRG-2, в 3 случаях – степени TRG-3, в 1 случае – степени TRG-4. Следует отметить, что в случае пациентки со степенью регрессии TRG-4 по техническим причинам химио-иммунотерапия была проведена с более длительными межкурсовыми интервалами. Более подробное описание курса лечения у данной группы пациентов представлено в таблице 29.

Важно отметить, что в нашем исследовании у 3 пациентов не была выявлена экспрессия PD-L1, при этом у этих пациентов был отмечен значительный патоморфологический регресс опухоли в рамках степеней TRG-1, TRG-2 и TRG-3.

Таблица 29 – Клинико-морфологические характеристики пациентов с MSI-статусом, получивших пред- и периоперационную химиоиммунотерапию

№	cTNM	Режим неoadъювантной терапии	Операция	Режим адъювантной терапии	PD-L1 (CPS)	Степень TRG	ypTNM
1	cT2N0M0	FOLFIRINOX –пембролизумаб- 5 курсов ниволумаб	ДСРЖ	-	10	TRG-4	ypT2N0M0
2	cT2N1M0	4 курса FOLFOX+ ниволумаб	ДСРЖ	4 курса FOLFOX+ ниволумаб	X*	TRG-1	ypT0N0M0
3	cT4aN1M0	2 курса FOLFOX - 2 курса FOLFOX+ ниволумаб	ГЭ	4 курса FOLFOX+ ниволумаб	5	TRG-2	ypT3N0M0
4	cT4aN1M0	2 курса FLOT - 4 курса FLOT+ ниволумаб - 2 курса FOLFOX	ДСРЖ	-	10	TRG-1	ypT0N0M0
5	cT3N1M0	2 курса FLOT - 2 курса FOLFOX+ ниволумаб	ГЭ	2 курса FOLFOX	0	TRG-1	ypT0N0M0
6	cT2N0M0	4 курса FOLFOX+ ниволумаб	ГЭ	4 курса FOLFOX	0	TRG-2	ypT1aN0M0
7	cT3N2M0	8 курсов FOLFOX + ниволумаб	ГЭ	-	16	TRG-3	ypT1aN0M0
8	cT4aN2M0	2 курса FLOT - 6 курсов FOLFOX+ ниволумаб	ГЭ	-	0	TRG-3	ypT3N3M0
9	cT3N2M0	8 курсов FOLFOX+ проглолимаб	ДСРЖ	-	10	TRG-1	ypT0N0M0
10	cT3N2M0	4 курса FOLFOX+ ниволумаб	ГЭ	-	X*	TRG-1	ypT0N0M0
11	cT4aN1M0	3 курса FLOT - 5 курсов FOLFOX+ ниволумаб	ГЭ	-	1	TRG-1	ypT0N0M0
12	cT3N1M0	2 курса FLOT – 4 курса FOLFOX+ проглолимаб – FOLFOX+ ниволумаб	ДСРЖ	-	5	TRG-3	ypT2N0M0

ГЭ – Гастрэктомия; ДСРЖ - Дистальная субтотальная резекция желудка; X – Невозможно оценить ввиду полного израсходования биопсийного материал

3.8.2 Описание клинического случая

Мы описываем 2 клинических случая, иллюстрирующих высокую эффективность химиоиммунотерапии. В качестве первого случая представлен пациент, у которого отмечена полная клиническая регрессия опухоли после периоперационной химиоиммунотерапии. Во втором случае продемонстрировано снижение стадии заболевания после периоперационной химиоиммунотерапии.

Случай 1: Больная Д., 62 года, больна с февраля 2022 года, когда появились жалобы на субфебрильную температуру, по поводу чего проходила обследование. При обследовании по месту жительства выявлен рак желудка, по поводу чего направлена в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

По данным компьютерной томографии брюшной полости с в/в усилением от 14.03.2022г. выявлено, что стенки желудка расправлены. Из верхней, средней трети большой кривизны желудка исходит массивная опухоль, пролабирующая в полость желудка, размером 7 x 5,5см (Рисунок 23А). Опухоль распространяется на заднюю стенку. У левой желудочной артерии/малой кривизны обнаружен метастатический лимфатический узел размером 1.5 x 1см (Рисунок 23В).

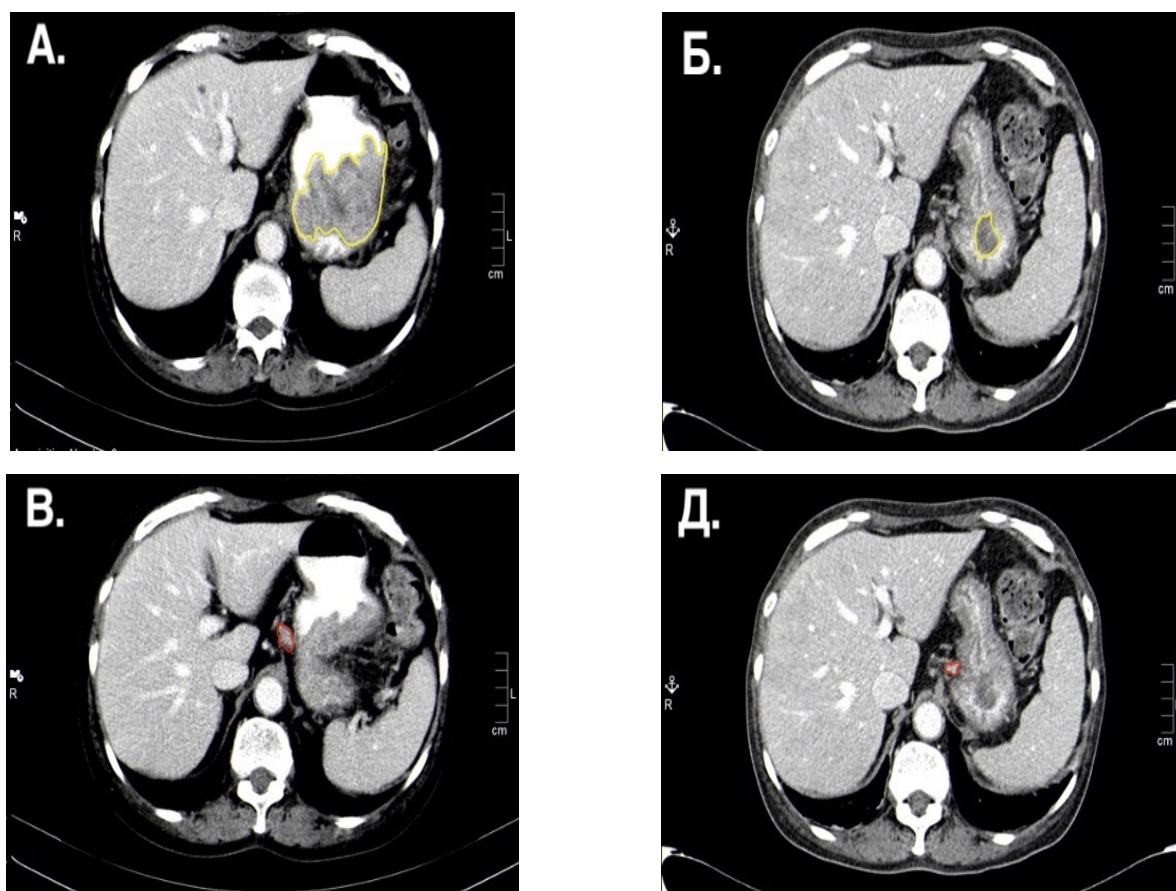
При данным эзофагогастродуоденоскопии и эндоскопической ультрасонографии от 10.03.2022г. выявлено, что на уровне верхней трети тела желудка (сТ3N1) преимущественно по большой кривизне с частичным переходом на заднюю стенку определяется крупнобугристый опухолевый инфильтрат с участками изъязвлений, покрытых налетом фибрина и местами с некрозом. Опухоль около 5 см в диаметре, резко фрагментируется при взятии биопсии, контактно кровоточива.

25.03.2022г. выполнена диагностическая лапароскопия, отдалённые метастазы не выявлены, результат цитологического исследования смывов с брюшной полости от 28.03.2022: опухолевых клеток не найдено.

Пациентка обсуждена на мультидисциплинарном консилиуме с диагнозом рак тела желудка сТ3N1M0, рекомендована периоперационная химиотерапия по схеме FLOT. С 05.04-20.04.2022г. проведено 2 курса химиотерапии по схеме

FLOT. По данным молекулярно-генетического исследования (определение микросателлитной нестабильности методом ПЦР) от 22.03.2022г. выявлен MSI статус в опухоли. Далее, с 04.05-28.05.2022г. проведено 2 курс химиоиммунотерапии по схеме FOLFOX+ ниволумаб.

Пациентке проведено повторное обследование после предоперационного блока терапии. По данным компьютерной томографии брюшной полости с в/в усилением от 09.06.2022г. выявлено, что за период наблюдения отмечается положительная динамика в виде уменьшения размера опухоли до 3,4 x 3 см (Рисунок 23Б). У левой желудочной артерии/малой кривизны ранее определяемый лимфатический узел уменьшился в размерах до 0,7 x 1 см (Рисунок 23Д).



А. опухоль желудка до лечения, Б. опухоль желудка после предоперационной химиоиммунотерапии, В. парагастральный лимфатический узел до лечения, Д. парагастральный лимфатический узел после лечения

Рисунок 23 - КТ брюшной полости с в/в усилением от 09.06.2022г.

05.07.2022 пациентке выполнена гастрэктомия, лимфодиссекция D2. По данным гистологического исследования операционного материала у пациентки выявлена аденокарцинома желудка с признаками полного морфологического регресса опухоли после лечения степени TRG-1. С целью определения PD-L1 статуса проведено иммуногистохимическое исследование с антителами к PD-L1 на биопсионном материале, экспрессии PD-L1 (CPS) не выявлено.

Таким образом, несмотря на отсутствие экспрессии PD-L1 (CPS), мы назначали пациентке периоперационную химиоиммунотерапию, и пациентка получила полный лечебный патоморфоз. В настоящее время пациентка находится под динамическим наблюдением после 2 курсов послеоперационной химиоиммунотерапии по схеме FOLFOX+ниволумаб и 2 курсов послеоперационной химиотерапии по схеме FOLFOX.

Случай 2: Больной А, 67 лет, болен с октября 2022 года, когда появились периодические боли в эпигастрии и слабость, по поводу чего проходил обследование. При обследовании по месту жительства выявлен рак желудка, по поводу чего направлен в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

По данным компьютерной томографии брюшной полости с в/в усилением от 09.11.2022г. выявлено, что стенки желудка вдоль малой кривизны и нижней поверхности тела неравномерно утолщены до 3 см, парагастральная клетчатка инфильтрирована, в ее структуре определяются увеличенные лимфатические узлы до 1,2 см (Рисунок 24А).

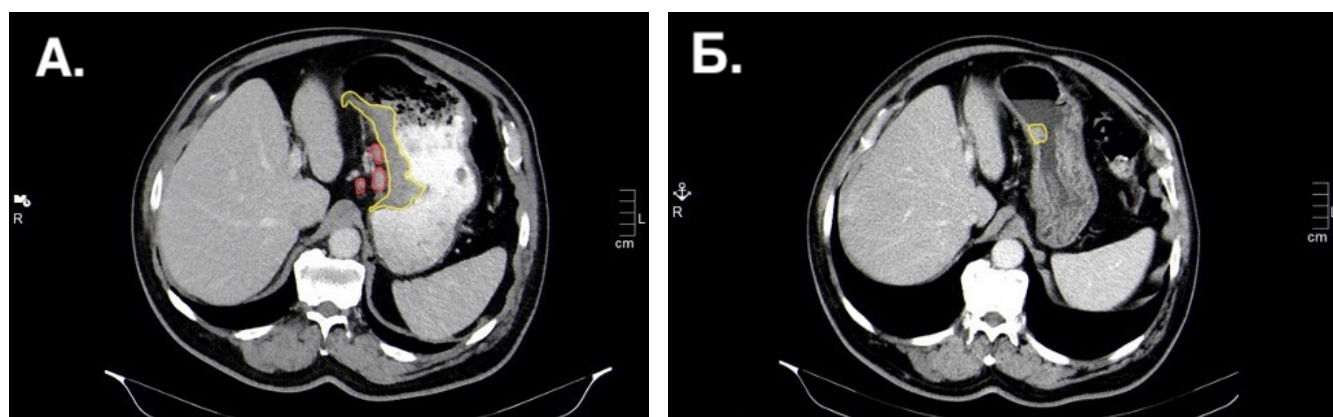
По данным эзофагогастродуоденоскопии и эндоскопической ультрасонографии от 08.11.2022г. выявлено, что на границе средней и нижней трети тела желудка (cT4aN1) по большой кривизне и задней стенке определяется массивный язвенный дефект с неровными, подрывными краями, глубиной около 7мм, дно которого покрыто плотным налетом фибрина протяженностью до верхней трети тела желудка.

25.11.2022 выполнена диагностическая лапароскопия, выхода опухоли на серозную оболочку не выявлено, отдаленные метастазы не выявлены. Результат цитологического исследования смывов с брюшной полости от 28.11.2022:

опухолевых клеток не найдено. По данным молекулярно-генетического исследования (определение микросателлитной нестабильности методом ПЦР) от 25.11.2022г. выявлен MSI статус в опухоли.

Пациент обсужден на мультидисциплинарном консилиуме с диагнозом рака тела желудка cT3N2M0, с учетом молекулярно-генетического профиля опухоли показано проведение периперационной химиоиммунотерапию в режиме FOLFOX+ниволумаб каждые 2 недели, суммарно 8 курсов. В период 30.11.2022-11.03.2023 проведено 8 курсов периперационной химиоиммунотерапии в режиме FOLFOX + ниволумаб.

После проведенного лечения по данным контрольного обследования (КТ брюшной полости с в/в усилением от 16.03.2023г.) отмечена положительная динамика в виде уменьшения опухоли до 1 см. Ранее определяемые парагастральные лимфатические узлы не определяются (Рисунок 24Б).



А. опухоль в желудке (выделена желтым цветом) и парагастральные лимфатические узлы (выделены красным) до лечения.

Б. Опухоль в желудке после лечения, лимфатические узлы не определяется

Рисунок 24 - КТ брюшной полости с в/в усилением от 16.03.2023г.

07.04.2023 пациенту выполнена гастрэктомия с лимфодиссекцией D2. По данным гистологического исследования операционного материала — аденокарцинома низкой степени злокачественности, глубина инвазии: собственная пластинка слизистой с инвазией в собственную мышечную пластинку. С целью определения PD-L1-статуса проведено

иммуногистохимическое исследование с антителами к PD-L1, выявлена положительная экспрессия PD-L1 (CPS=16).

После проведенного лечения пациент находится под динамическим наблюдением на момент исследования до 01.12.2023 без признаков прогрессирования.

3.8.3 Обсуждение

На сегодняшний день по данным различных исследований MSI-статус можно использовать в качестве предиктора эффективности назначения иммунотерапии [4,5]. Как показало исследование TCGA и ACRG, подтип MSI ассоциирован с гиперметилением и высокой мутационной нагрузкой, что приводит к усиленной экспрессии неоантигенов и соответствующей экспрессии иммунных контрольных точек в микроокружении опухоли. Терапия ниволумабом и пембролизумабом для лечения РЖ продемонстрировала относительно высокие показатели ответа у пациентов с MSI статусом [130,156,157]. Аналогичная тенденция наблюдалась и при других опухолях, включая рак пищевода, колоректальный рак и немелкоклеточный рак легкого [27,61,91,125,142].

Zhang и соавт. провели исследование, в котором было показано, что пациенты с местно-распространенным РЖ с MSI-статусом имели хороший результат при назначении периоперационной химиоиммунотерапии [190]. Все 6 пациентов в исследовании ответили на лечение, причем в 5 из 6 случаев (83,33 %) отмечен полный лечебный патоморфоз. Также во IIb фазе исследования DANTE исследователи показали, что добавление атезолизумаба к периоперационному режиму FLOT привело к развитию полного лечебного патоморфоза у 6 (60 %) из 10 пациентов [9]. В исследовании NEONIPIGA комбинированное назначение иммунотерапии ниволумабом и ипилимумабом позволило достичь полный лечебный патоморфоз у 58,6 % пациентов после 12-недельного курса терапии [14].

В исследование FLOT4 в 94% случаев после неоадьювантной химиотерапии пациентам проводилось хирургическое лечение, и только в 2% случаев на фоне лечения произошло прогрессирование заболевания или летальный исход [8]. Другие исследования, в которых изучали неоадьювантную химиотерапию при РЖ, продемонстрировали похожие результаты по частоте проведения хирургического лечения или прогрессирования заболевания на фоне терапии [22,148]. Наши собственные данные показывают, что прогрессирование заболевания на фоне периоперационной химиотерапии возникает в 7,72% случаев (21/272), при этом среди больных с MSS-статусом частота прогрессирования составила 5.98% (15/251), а среди больных с MSI-статусом прогрессирование возникало значительно чаще, а именно в 28,57% случаев (6/21). При этом важно отметить, что среди 10 пациентов с MSI-статусом, получивших периоперационную химиоиммунотерапию, ни в одном случае не было выявлено прогрессирования заболевания. Среди этой группы пациентов отмечалась высокая частота значительного патоморфологического регресса опухоли – более 50% имели степень регрессии TRG-1-2. Учитывая, что химиотерапия по схеме FLOT является текущим стандартом периоперационной терапии операбельного РЖ, для опухолей с MSI статусом она обладает низкой эффективностью (0% случаев патоморфологической регрессии опухоли степени TRG1-3). Наше исследование — это первое исследование в России, где была изучена периоперационная химиоиммунотерапия операбельного РЖ с MSI статусом.

В настоящее время в ряде исследований активно изучается роль ингибиторов контрольных точек и/или таргетной терапии в дополнение к стандартному периоперационному лечению. Актуальность изучения таких подходов к лечению основана на результатах эффективности комбинированной терапии, а именно улучшения частоты полного патоморфологического ответа и показателей выживаемости при лечении метастатических форм опухоли [28]. Актуальными исследованиями, в которых иммунотерапия изучается в комбинации с периоперационной химиотерапией, являются исследования KEYNOTE 585 (ClinicalTrials.gov: NCT03221426), в котором проводится

сравнение пембролизумаба с плацебо, и исследование DANTE/FLOT8 (ClinicalTrials.gov: NCT03421288), в котором оценивается добавление атезолизумаба к периоперационной химиотерапии по схеме FLOT. Дальнейшее понимание биомаркеров периоперационной химио-иммунотерапии (FLOT-авелумаб) будет прояснено в исследовании II фазы ICONIC (ClinicalTrials.gov: NCT03399071). Ленватиниб, пероральный мультикиназный ингибитор, также исследуется в комбинации с пембролизумабом в качестве периоперационного лечения (ClinicalTrials.gov: NCT04745988). Даже если все эти испытания не были специально разработаны для статуса MSI/dMMR, они, несомненно, предоставят важные ретроспективные данные по этой подгруппе пациентов. Исследование INFINITY (NCT04817826) для подтверждения концепции специально разработано для пациентов с резектабельным раком желудка или кардиоэзофагального перехода с MSI статусом и исследует роль комбинации дурвалумаб+тремелимуаб в качестве неoadьювантного потенциально окончательного лечения (избегая хирургического вмешательства в случае полного клинического ответа) [140]. Кроме того, в настоящее время в исследовании IMHOTEP оценивается эффективность пембролизумаба в периоперационном режиме при опухолях с MSI статусом [41].

Ограничениями нашего исследования являются небольшая выборка пациентов с MSI-статусом и малое время динамического наблюдения. Учитывая данные, которые мы получили, для выбора оптимального варианта использования иммунотерапии у больных резектабельным РЖ с MSI-статусом (иммунотерапия анти-PD1 антителами, двойная иммунотерапия или химиоиммунотерапия), а также факторов, предсказывающих их эффективность, требуются дальнейшие проспективные исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рак желудка — это гетерогенное заболевание, молекулярно-генетическое профилирование которого даёт возможность подбирать правильную тактику лечения. Нами проведено ретроспективное исследование на базе крупнейшей онкологической клиники в Российской Федерации. Согласно текущему исследованию, частота выявления MSI-статуса составила 8,52%. MSI-статус достоверно реже встречается при диссеминированном раке желудка.

Рак желудка является одним из наиболее агрессивных злокачественных новообразований с высоким метастатическим потенциалом. Несмотря на активные усилия по определению лучших лечебных стратегий и современные успехи в химиотерапии и таргетной терапии, прогноз у пациентов местнораспространёнными и диссеминированными формами РЖ остаётся неблагоприятным. Многие исследования по изучению РЖ в настоящее время основаны на доказательствах того, что выживаемость пациентов и ответ на лечение зависят не только от стадии опухоли, но и от гетерогенных молекулярных особенностей этого злокачественного новообразования.

Проект TCGA впервые представил систематическую классификацию РЖ, сосредоточив внимание на генетическом профилировании, определив четыре различных подтипа со специфическим молекулярным строением. Рак желудка с микросателлитной нестабильностью представляет группу особого интереса в связи со своеобразным иммунологическим микроокружением и ответом на лечение. Наши данные подтверждают данные крупного метаанализа ретроспективных исследований, что позволяет рассматривать больных РЖ с MSI-статусом как отдельную группу больных, в основном характеризующуюся пожилым возрастом, женским полом, локализацией в нижней трети желудка и гистологическим кишечным типом по классификации P. Lauren. Эти исследования позволили в целом определить предиктивное и прогностическое значение этой молекулярной подгруппы, что уже ранее было оценено при колоректальном раке.

На сегодняшний день по рекомендациям AOP и RUSSCO по лечению рака желудка, пациентам с резектабельным РЖ при стадиях cT1a-1bN0M0 и cT2N0M0 (или при других стадиях при наличии противопоказаний к неоадьювантной химиотерапии) на первом этапе показано хирургическое лечение. В нашем исследовании нам не удалось получить статистически значимый вывод о прогностической ценности MSI-статуса при ранних стадиях заболевания.

Касательно эффективности адьювантной химиотерапии мы не смогли оценить влияние статуса MSI у больных, получивших либо только хирургическое лечение, либо хирургическое в сочетании с адьювантной химиотерапией. В первую очередь это было вызвано неодинаковым распространением опухоли в сравнимых группах.

Исследования CLASSIC доказал, что пациенты с MSI-статусом не получают пользу от адьювантной химиотерапии - в подгрупповом анализе среди пациентов, которые получили адьювантную химиотерапию после операции, у больных с MSI-статусом не отмечались более высокие показатели выживаемости (без указания статистической значимости). На основании данных исследований можно предлагать, что пациенты с операбельным РЖ с фенотипом MSI должны пройти мультидисциплинарное обсуждение, чтобы рассмотреть новые варианты таргетной или иммунотерапии.

Периоперационная химиотерапия является стандартом лечения при местно-распространенном РЖ, однако только 62% пациентов отвечают на проведенное лечение, что делает важным отбор пациентов, которые могут получить пользу от химиотерапии. В нашем исследовании мы изучили влияние MSI-статуса на эффективность периоперационной химиотерапии при РЖ. Наши собственные результаты показали, что у больных с MSI-статусом непосредственные и отдалённые результаты периоперационной химиотерапии значительно хуже. Учитывая эти результаты, встает вопрос об обоснованности назначения предоперационной химиотерапии таким пациентам. Возможно, стоит избегать добавления неоадьювантной химиотерапии у пациентов с MSI-статусом ввиду ее неэффективности. При этом возможно снизить токсичность, связанную с

лечением, и добиться более благоприятных отдаленных результатов. Таким образом, рассмотрение вопроса о проведении стандартной схемы периоперационной химиотерапии, по нашему мнению, может быть рациональным лишь у пациентов с MSS-статусом.

Проведение периоперационной химио-иммунотерапии — это новое направление, которое активно изучается в последнее время. Несмотря на малое количество пациентов, наши собственные данные и данные литературы говорят о высокой частоте полного патоморфологического ответа опухоли на лечение, а также низкой частоте прогрессирования заболевания, на основании чего периоперационную химиоиммунотерапию можно рассматривать как эффективный метод лечения больных раком желудка с MSI-статусом. Следовательно, негативное влияние химиотерапии по сравнению с многообещающими результатами, полученными при использовании ингибиторов иммунных контрольных точек, может быть объяснено наличием специфического иммунного микроокружения, описанного в опухолях с MSI-статусом.

Лечение больных с метастатическим РЖ всегда является сложной задачей, во многих клинических исследованиях изучаются различные подходы к лечению в стремлении увеличить выживаемость. Наше исследование показало возможность использования статуса MSI как потенциального предикторного фактора для назначения химиоиммунотерапии.

В заключении необходимо добавить, что у больных РЖ с MSI-статусом опухоли характеризуются определёнными гистологическими и молекулярными особенностями, клиническим течением заболевания и ответом на противоопухолевое лечение. Эти данные свидетельствуют о необходимости определения статуса микросателлитной нестабильности до запланированного лечения у всех пациентов РЖ на всех стадиях заболевания. Дальнейшие проспективные исследования с заранее запланированным генетическим профилированием пациентов с РЖ могут подтвердить имеющиеся данные. Несмотря на обнадеживающие результаты, значительная часть пациентов РЖ с MSI-статусом не получает никакой пользы даже от иммунотерапии.

Следовательно, специализированные иммунотерапевтические исследования могут быть полезны для понимания взаимодействия между иммунной микросредой и молекулярным профилем опухоли, чтобы в конечном итоге гарантировать наиболее подходящее лечение для каждого больного РЖ.

ВЫВОДЫ

1. Частота выявления MSI-статуса в российской популяции больных раком желудка составила 8,5%. MSI-статус наблюдается чаще при резектабельном РЖ (11,7%), чем при диссеминированном (3,3%) ($p < 0,001$). MSI-статус ассоциирован с женским полом, пожилым возрастом, локализацией опухоли в нижней трети желудка и кишечным типом опухоли по P. Lauren.

2. Частота прогрессирования у больных РЖ в процессе периоперационной химиотерапии (FLOT/FOLFIRINOX) выше у пациентов с MSI-статусом опухоли, чем при опухолях с MSS-статусом ($p < 0,05$).

3. Безрецидивная выживаемость у больных с MSI-статусом после системной периоперационной химиотерапии с использованием современных режимов химиотерапии (FLOT/FOLFIRINOX) хуже, чем у больных с MSS-статусом (36 месяцев против медиана БРВ не достигнута, $p = 0,027$). Медианы ОБ не достигнуты ни в одной из подгрупп ($p = 0,021$).

4. Ни у одного из пациентов с MSI-статусом после предоперационной химиотерапии не было зафиксировано значительного патоморфоогического ответа (степень TRG 1 или 2), тогда как среди пациентов с MSS-опухолями он был достигнут в 25% случаев.

5. Частота экспрессии PD-L1 достоверно выше у больных с MSI-статусом в опухоли, чем у пациентов с MSS-типом опухоли (78,4% и 49,4% соответственно, $p = 0,002$).

6. Предоперационная химиоиммунотерапия позволяет достичь полной морфологической регрессии опухоли у 50% пациентов с резектабельным РЖ с MSI-статусом.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определение статуса микросателлитной нестабильности необходимо для выбора тактики лечения больных резектабельным раком желудка.
2. Проведение периоперационной химиотерапии возможно лишь у пациентов с местно-распространенным РЖ с MSS-статусом, в то время как у пациентов с MSI статусом целесообразно избегать проведения стандартной периоперационной химиотерапии.
3. Пациентам с местно-распространенным РЖ с MSI-статусом рекомендуется проведение химиотерапии с комбинацией ингибиторов иммунных контрольных точек, т.к. такой подход даёт высокую частоту полного патоморфологического ответа опухоли на лечение.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ACRG	- Азиатская группа по изучению рака (Asian Cancer Research Group)
AJCC	- Американский объединенный комитет по борьбе с раком (American Joint Committee on Cancer)
CPS	- комбинированный показатель позитивности (Combined Positive Score)
HER2	- рецептор эпидермального фактора роста, тип 2 (Human epidermal growth factor receptor 2)
MSI	-Микросателлитная нестабильность (Microsatellite instability)
NGS	-секвенирование нового поколения (Next-Generation Sequencing)
PD-L1	-лиганд рецептора программируемой клеточной смерти 1 (Programmed death-ligand 1)
RECIST	-критерии ответа солидных опухолей на терапию (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors)
TCGA	- Атлас генома рака (The Cancer Genome Atlas)
TRG	-степень регрессии опухоли (Tumor regression grade)
ВБП	-время без прогрессирования
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ИГХ	-иммуногистохимия
КТ	- компьютерная томография
МРТ	-магнитно-резонансная томография
ПЭТ	-позитронно-эмиссионная томография и компьютерная
КТ	томография
РЖ	-рак желудка
РНК	- рибонуклеиновая кислота
ХТ	-химиотерапия

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Авдюхин, И.Г. Периоперационная химиотерапия в режиме FLOT у больных операбельной аденокарциномой желудка и кардиоэзофагеального перехода (I–III тип по классификации SIEWERT). Опыт НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина / И. Г. Авдюхин, И. Н. Перегородиев, А. Е. Калинин и др. // Злокачественные опухоли. – 2022. – Т. 12, № 4. – С. 5-13.
- [2] Каприн, А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2021 Году (заболеваемость и смертность) / под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой. – Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2022. – (Филиал ФГБУ «НМИЦ Радиологии» Минздрава России). – ИЛ. – 252 с.
- [3] Сунь, Хэнянь Прогностическая значимость микросателлитной нестабильности у больных раком желудка, получающих неоадьювантную терапию / Хэнянь Сунь, С.Н. Неред, А.А. Трякин [и др.] // Вопросы онкологии. – 2023. – Т. 69, № 2. – С. 275-284.
- [4] Сунь, Хэнянь Результаты комбинированного лечения резектабельного рака желудка в зависимости от статуса микросателлитной нестабильности / Хэнянь Сунь, С. Н. Неред, А. А. Трякин и др. // Тазовая хирургия и онкология. – 2023. – Т. 13, № 2. – С. 17-26.
- [5] Трякин, А.А. Микросателлитная нестабильность как уникальная характеристика опухолей и предиктор эффективности иммунотерапии /А. А. Трякин, М. Ю. Федянин, А. С. Цуканов и др. // Злокачественные опухоли. – 2019. – Т. 9, № 4. – С. 59-69.
- [6] Abe, H. ARID1A expression loss in gastric cancer: pathway-dependent roles with and without Epstein-Barr virus infection and microsatellite instability/ H. Abe, D. Maeda, R Hino [et al.] // Virchows Archiv – 2012. – Vol. 461, № 4. – P. 367-77.
- [7] Al-Batran, S. Histopathological regression after neoadjuvant docetaxel, oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin versus epirubicin, cisplatin, and fluorouracil or capecitabine in patients with resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4-AIO): results from the phase 2 part of a multicentre, open-

label, randomised phase 2/3 trial / S. Al-Batran, R. Hofheinz, C. Pauligk [et al.], // *Lancet Oncology* –2016 – Vol.17, №12. – P. 1697-708

[8] Al-Batran, S. Perioperative chemotherapy with fluorouracil plus leucovorin, oxaliplatin, and docetaxel versus fluorouracil or capecitabine plus cisplatin and epirubicin for locally advanced, resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4): a randomised, phase 2/3 trial / S. Al-Batran, N. Homann, C. Pauligk [et al.] // *The Lancet*. – 2019. – Vol. 10184, № 393. –P. 1948–1957.

[9] Al-Batran, S. Surgical and pathological outcome, and pathological regression, in patients receiving perioperative atezolizumab in combination with FLOT chemotherapy versus FLOT alone for resectable esophagogastric adenocarcinoma: Interim results from DANTE, a randomized, multicenter, phase IIb trial of the FLOT-AIO German Gastric Cancer Group and Swiss SAKK. / S. Al-Batran, S. Lorenzen, P. Thuss-Patience [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2022. – Vol.40, № 16_suppl. – P. 4003–4003.

[10] Alexandrov, L. Signatures of mutational processes in human cancer / L. Alexandrov, S. Nik-Zainal, D. Wedge [et al.] // *Nature*. – 2013. – Vol. 500, № 7463. – P. 415-21.

[11] Alpert, L. Colorectal Carcinomas With Isolated Loss of PMS2 Staining by Immunohistochemistry / L. Alpert, R. Pai, A. Srivastava et.// *Arch Pathol Lab Med* – 2018. – Vol. 142, № 4 – P. 523-28.

[12] An, J. Microsatellite instability in sporadic gastric cancer: its prognostic role and guidance for 5-FU based chemotherapy after R0 resection / J. An, H. Kim, J. Cheong [et al.] // *International Journal of Cancer*. – 2012. – Vol. 131, № 2. – P. 505-11.

[13] André, T. Pembrolizumab in Microsatellite-Instability-High Advanced Colorectal Cancer/ T. André, K. Shiu, T. Kim [et al.] // *The New England Journal of Medicine*. – 2020. – Vol. 383, № 23. – P. 2207-2218.

[14] André, T. Neoadjuvant Nivolumab Plus Ipilimumab and Adjuvant Nivolumab in Localized Deficient Mismatch Repair/Microsatellite Instability-High Gastric or Esophagogastric Junction Adenocarcinoma: The GERCOR NEONIPIGA Phase II Study/ T. André, D. Tougeron, G. Piessen [et al.]// *Journal of Clinical Oncology*.

– 2023. – Vol. 41, № 2. – P. 255-265.

[15] Arulananda, S. Mismatch Repair Protein Defects and Microsatellite Instability in Malignant Pleural Mesothelioma / S.Arulananda, B. Thapa, M. Walkiewicz [et al.]// Journal of Thoracic Oncology – 2018. – Vol. 13, № 10. – P. 1588-1594.

[16] Bae, Y. Usefulness of Immunohistochemistry for Microsatellite Instability Screening in Gastric Cancer / Y. Bae, H. Kim, S. Noh [et al.]// Gut and Liver. – 2015. – Vol. 9, № 5. – P. 629-35.

[17] Balar, A. First-line pembrolizumab in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and unresectable or metastatic urothelial cancer (KEYNOTE-052): a multicentre, single-arm, phase 2 study / A. Balar, D. Castellano, P. O'Donnell [et al.] // The Lancet Oncology. – 2017. – Vol. 18, № 11. – P. 1483-1492.

[18] Bang, Y. Pembrolizumab alone or in combination with chemotherapy as first-line therapy for patients with advanced gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma: results from the phase II nonrandomized KEYNOTE-059 study / Y. Bang, Y. Kang, D. Catenacci [et al.]// Gastric Cancer. – 2019. – Vol. 22, № 4. – P. 828-837.

[19] Bang, Y. Adjuvant capecitabine and oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): a phase 3 open-label, randomised controlled trial / Y. Bang, Y. Kim, H. Yang [et al.]// The Lancet. – 2012. – Vol. 379, № 9813. – P. 315-21.

[20] Bauml, J. Pembrolizumab for Platinum- and Cetuximab-Refractory Head and Neck Cancer: Results From a Single-Arm, Phase II Study / J. Bauml, T. Seiwert, D. Pfister [et al.] // J Clin Oncol. – 2017. – Vol. 35, № 14. – P. 1542-1549.

[21] Beghelli, S. Microsatellite instability in gastric cancer is associated with better prognosis in only stage II cancers / S.Beghelli, G. de Manzoni, S. Barbi [et al.] // Surgery. – 2006. – Vol. 139, № 3. – P. 347-56.

[22] Berenato, R. Preoperative Capecitabine, Oxaliplatin, and Irinotecan in Resectable Gastric or Gastroesophageal Junction Cancer: Pathological Response as Primary Endpoint and FDG-PET Predictions / R. Berenato, F. Morano, F. Pietrantonio [et al.]// Oncology. – 2017. – Vol. 93, № 5. – P. 279-286.

[23] Bernal, M. Implication of the $\beta 2$ -microglobulin gene in the generation of tumor escape phenotypes / M.Bernal, F. Ruiz-Cabello, A. Concha [et al.] // Cancer Immunol Immunotherapy. –2012. – Vol. 61, № 9. – P. 1359-71.

[24] Böger, C. PD-L1 is an independent prognostic predictor in gastric cancer of Western patients / C. Böger, H.Behrens, M. Mathiak [et al.] // Oncotarget. –2016. – Vol. 7, № 17. – P. 24269-83.

[25] Borghaei, H. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer / H. Borghaei, L. Paz-Ares, L. Horn [et al.] // The New England Journal of Medicine. –2015. – Vol. 373, № 17. – P. 1627-39.

[26] Caldas, C. Familial gastric cancer: overview and guidelines for management / C. Caldas, F. Carneiro, H. Lynch [et al.] // Journal of Medical Genetics. – 1999. – Vol. 36, № 12. – P. 873-80.

[27] Carbone, D. First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non-Small-Cell Lung Cancer / D. Carbone, M. Reck, L. Paz-Ares [et al.] // The New England Journal of Medicine. –2017. – Vol. 376, № 25. – P. 2415-2426.

[28] Catanese, S. Targeted and immunotherapy in the era of personalised gastric cancer treatment / S. Catanese, F. Lordick // Best Practice & Research Clinical Gastroenterology – 2021. – Vol. 50-51. – P. 101738.

[29] Chang, H. Programmed death-ligand 1 expression in gastric adenocarcinoma is a poor prognostic factor in a high CD8+ tumor infiltrating lymphocytes group /H. Chang, W. Jung, Y. Kang [et al.] // Oncotarget. –2016. – Vol. 7, № 49. – P. 80426-80434.

[30] Chao, J. Assessment of Pembrolizumab Therapy for the Treatment of Microsatellite Instability-High Gastric or Gastroesophageal Junction Cancer Among Patients in the KEYNOTE-059, KEYNOTE-061, and KEYNOTE-062 Clinical Trials / J. Chao, C. Fuchs, K. Shitara [et al.] // JAMA Oncology –2021. – Vol. 7, № 6. – P. 895-902.

[31] Cheah, P. Screening for microsatellite instability in colorectal carcinoma: Practical utility of immunohistochemistry and PCR with fragment analysis in a diagnostic histopathology setting / P. Cheah, J. Li, L. Looi [et al.] // Malays J Pathology

– 2019. – Vol. 41, № 2. – P. 91-100.

[32] Chen, D. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle / D. Chen, I Mellman // *Immunity*. – 2013. – Vol. 39, № 1. – P. 1-10.

[33] Chen, M. PD-1/PD-L1 Inhibitor Plus Chemotherapy Versus PD-1/PD-L1 Inhibitor in Microsatellite Instability Gastrointestinal Cancers: A Multicenter Retrospective Study / M. Chen, Z. Wang, Z. Liu [et al.] // *JCO Precision Oncology*. – 2023. – Vol. 7, № 1. – P. e2200463.

[34] Cheng, D. Comprehensive detection of germline variants by MSK-IMPACT, a clinical diagnostic platform for solid tumor molecular oncology and concurrent cancer predisposition testing / D. Cheng, M. Prasad, Y. Chekaluk [et al.] // *BMC Med Genomics*. – 2017. – Vol. 10, № 1. – P. 33.

[35] Choi, E. Prognostic perspectives of PD-L1 combined with tumor-infiltrating lymphocytes, Epstein-Barr virus, and microsatellite instability in gastric carcinomas / E. Choi, M. Chang, S. Byeon [et al.] // *Diagn Pathol*. – 2020. – Vol. 15, № 1. – P. 69.

[36] Choi, Y. Microsatellite Instability and Programmed Cell Death-Ligand 1 Expression in Stage II/III Gastric Cancer: Post Hoc Analysis of the CLASSIC Randomized Controlled study / Y. Choi, H. Kim, S. Shin [et al.] // *Ann Surg*. – 2019. – Vol. 270, № 2. – P. 309-316.

[37] Cohen, R. Microsatellite Instability in Patients With Stage III Colon Cancer Receiving Fluoropyrimidine With or Without Oxaliplatin: An ACCENT Pooled Analysis of 12 Adjuvant Trials / R. Cohen, J. Taieb, J. Fiskum [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2021. – Vol. 39, № 6. – P. 642-651.

[38] Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma // *Nature*. – 2014. – Vol. 513, № 7517. – P. 202-9.

[39] Corso, G. Correlation of microsatellite instability at multiple loci with long-term survival in advanced gastric carcinoma / G. Corso, C. Pedrazzani, D. Marrelli [et al.] // *Arch Surg*. – 2009. – Vol. 144, № 8. – P. 722-7.

[40] Corso, G. Oncogenic mutations in gastric cancer with microsatellite instability / G. Corso, S. Velho, J. Paredes [et al.] // *Eur J Cancer*. – 2011. – Vol. 47, №

3. – P. 443-51.

[41] Coutzac, C. Immunotherapy in MSI/dMMR tumors in the perioperative setting: The IMHOTEP trial / C. Coutzac, F. Bibeau, A. Ben [et al.] // Dig Liver Dis. – 2022. – Vol. 54, № 10. – P. 1335-1341.

[42] Cristescu, R. Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes / R. Cristescu, J. Lee, M. Nebozhyn [et al.] // Nat Med. – 2015. – Vol. 21, № 5. – P. 449-56.

[43] Cunningham, D. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer / D. Cunningham, W. Allum, S. Stenning [et al.] // N Engl J Med. – 2006. – Vol. 355, № 1. – P. 11-20.

[44] Daud, A. Programmed Death-Ligand 1 Expression and Response to the Anti-Programmed Death 1 Antibody Pembrolizumab in Melanoma / A. Daud, J. Wolchok, C. Robert [et al.] // J Clin Oncol. – 2016. – Vol. 34, № 34. – P. 4102-4109.

[45] Derks, S. Abundant PD-L1 expression in Epstein-Barr Virus-infected gastric cancers / S. Derks, X. Liao, A. Chiaravalli [et al.] // Oncotarget. – 2016. – Vol. 7, № 22. – P. 32925-32.

[46] Deschoolmeester, V. Detection of microsatellite instability in colorectal cancer using an alternative multiplex assay of quasi-monomorphic mononucleotide markers / V. Deschoolmeester, M. Baay, W. Wuyts [et al.] // J Mol Diagn. – 2008. – Vol. 10, № 2. – P. 154-9.

[47] Di Bartolomeo, M. Prognostic and Predictive Value of Microsatellite Instability, Inflammatory Reaction and PD-L1 in Gastric Cancer Patients Treated with Either Adjuvant 5-FU/LV or Sequential FOLFIRI Followed by Cisplatin and Docetaxel: A Translational Analysis from the ITACA-S Trial / M. Di Bartolomeo, F. Morano, A. Raimondi [et al.] // Oncologist. – 2020. – Vol. 25, № 3. – P. e460-e468.

[48] Dudley, J. Microsatellite Instability as a Biomarker for PD-1 Blockade / J. Dudley, M. Lin, D. Le [et al.] // Clin Cancer Res. – 2016. – Vol. 22, № 4. – P. 813-20.

[49] Eisenhauer, E. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1) / E. Eisenhauer, P. Therasse, J. Bogaerts [et al.] // Eur J Cancer. – 2009. – Vol. 45, № 2. – P. 228-47.

[50] El-Khoueiry, A. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): an open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial / A. El-Khoueiry, B. Sangro, T. Yau [et al.] // *Lancet*. – 2017. – Vol. 389, № 10088. – P. 2492-2502.

[51] Engel, K. Effects of preanalytical variables on the detection of proteins by immunohistochemistry in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue / K. Engel, H. Moore // *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. – 2011. – Vol. 135, № 5. – P. 537-43.

[52] Falchetti, M. Gastric cancer with high-level microsatellite instability: target gene mutations, clinicopathologic features, and long-term survival / M. Falchetti, C. Saieva, R. Lupi [et al.] // *Hum Pathol*. – 2008. – Vol. 39, № 6. – P. 925-32.

[53] Fang, W. Microsatellite instability is associated with a better prognosis for gastric cancer patients after curative surgery / W. Fang, S. Chang, Y. Lan [et al.] // *World J Surg*. – 2012. – Vol. 36, № 9. – P. 2131-8.

[54] Fridman, W. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome / W. Fridman, F. Pagès, C. Sautès-Fridman [et al.] // *Nat Rev Cancer*. – 2012. – Vol. 12, № 4. – P. 298-306.

[55] Fuchs, C. Safety and Efficacy of Pembrolizumab Monotherapy in Patients With Previously Treated Advanced Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer: Phase 2 Clinical KEYNOTE-059 Trial / C. Fuchs, T. Doi, R. Jang [et al.] // *JAMA Oncol*. – 2018. – Vol. 4, № 5. – P. e180013.

[56] Fuchs, C. Pembrolizumab versus paclitaxel for previously treated PD-L1-positive advanced gastric or gastroesophageal junction cancer: 2-year update of the randomized phase 3 KEYNOTE-061 trial / C. Fuchs, M. Özgüroğlu, Y. Bang [et al.] // *Gastric Cancer*. – 2022. – Vol. 25, № 1. – P. 197-206.

[57] Gao, J. Tumor heterogeneity of gastric cancer: From the perspective of tumor-initiating cell / J. Gao, W. Xu, W. Liu [et al.] // *World J Gastroenterol*. – 2018. – Vol. 24, № 24. – P. 2567-2581.

[58] Garon, E. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer / E. Garon, N. Rizvi, R. Hui [et al.] // *N Engl J Med*. – 2015. – Vol. 372, № 21. – P. 2018-

2028.

[59] Gatalica, Z. Programmed cell death 1 (PD-1) and its ligand (PD-L1) in common cancers and their correlation with molecular cancer type / Z. Gatalica, C. Snyder, T. Maney [et al.] // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2014. – Vol. 23, № 12. – P. 2965-70.

[60] Goel, A. An optimized pentaplex PCR for detecting DNA mismatch repair-deficient colorectal cancers / A. Goel, T. Nagasaka, R. Hamelin et. // *PLoS One.* – 2010. – Feb 24. – Vol. 5, № 2. – P. e9393.

[61] Greally, M. Clinical and Molecular Predictors of Response to Immune Checkpoint Inhibitors in Patients with Advanced Esophagogastric Cancer / M. Greally, J Chou, W. Chatila [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2019. – Vol. 25, № 20. – P. 6160-6169.

[62] Haag, G. Prognostic significance of microsatellite-instability in gastric and gastroesophageal junction cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy / G. Haag, E. Czink, A. Ahadova [et al.] // *Int J Cancer.* – 2019. – Vol. 144, № 7. – P. 1697-1703.

[63] Halling, K. Origin of microsatellite instability in gastric cancer / K. Halling, J. Harper, C. Moskaluk [et al.] // *Am J Pathol.* – 1999. – Vol. 155, № 1. – P. 205-11.

[64] Hasegawa, H. A multicenter, open-label, single-arm phase I trial of neoadjuvant nivolumab monotherapy for resectable gastric cancer / H. Hasegawa, K. Shitara, S. Takiguchi [et al.] // *Gastric Cancer.* – 2022. – Vol. 25, № 3. – P. 619-628.

[65] Hashimoto, T. Predictive value of MLH1 and PD-L1 expression for prognosis and response to preoperative chemotherapy in gastric cancer / T. Hashimoto, Y. Kurokawa, T. Takahashi [et al.] // *Gastric Cancer.* – 2019. – Vol. 22, № 4. – P. 785-792.

[66] Hause, R. Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types / R. Hause, C. Pritchard, J. Shendure et. // *Nature Medicine* – 2016. – Nov. – Vol. 22, № 11. – P. 1342-1350.

[67] Hempelmann, J. Microsatellite instability in prostate cancer by PCR or next-generation sequencing / J. Hempelmann, C. Lockwood, E. Konnick [et al.] // *J*

Immunother Cancer. – 2018. – Vol. 6, № 1. – P. 29.

[68] Hirata, T. Characterization of the immune escape phenotype of human gastric cancers with and without high-frequency microsatellite instability / T. Hirata, H. Yamamoto, H. Taniguchi [et al.] // J Pathol. – 2007. – Vol. 211, № 5. – P. 516-523.

[69] Hudler, P. Genetic aspects of gastric cancer instability / P. Hudler // ScientificWorldJournal. – 2012. – Vol. 2012, № 1. – C. 761909.

[70] Hui, R. Pembrolizumab as first-line therapy for patients with PD-L1-positive advanced non-small cell lung cancer: a phase 1 trial / R. Hui, E. Garon, J. Goldman [et al.] // Ann Oncol. – 2017. – Vol. 28, № 4. – P. 874-881.

[71] Janjigian, Y. CheckMate-032 Study: Efficacy and Safety of Nivolumab and Nivolumab Plus Ipilimumab in Patients With Metastatic Esophagogastric Cancer / Y. Janjigian, J. Bendell, E. Calvo [et al.] // J Clin Oncol. – 2018. – Vol. 36, № 28. – P. 2836-2844.

[72] Janjigian, Y. First-line nivolumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for advanced gastric, gastro-oesophageal junction, and oesophageal adenocarcinoma (CheckMate 649): a randomised, open-label, phase 3 trial / Y. Janjigian, K. Shitara, M. Moehler [et al.] // Lancet. – 2021. – Vol. 398, № 10294. – P. 27-40.

[73] Jiang, Y. ImmunoScore Signature: A Prognostic and Predictive Tool in Gastric Cancer / Y. Jiang, Q. Zhang, Y. Hu [et al.] // Ann Surg. – 2018. – Vol. 267, № 3. – P. 504-513.

[74] Kaneko, S. Time trend analysis of gastric cancer incidence in Japan by histological types, 1975-1989 / S. Kaneko, T. Yoshimura // Br J Cancer. – 2001. – Vol. 84, № 3. – P. 400-5.

[75] Kang, S. Comparative analysis of microsatellite instability by next-generation sequencing, MSI PCR and MMR immunohistochemistry in 1942 solid cancers / S. Kang, D. Kim, S. Ahn [et al.] // Pathol Res Pract. – 2022. – Vol. 233, № 1. – P. 153874.

[76] Kawazoe, A. Clinicopathological features of programmed death ligand 1 expression with tumor-infiltrating lymphocyte, mismatch repair, and Epstein-Barr virus

status in a large cohort of gastric cancer patients / A. Kawazoe, T. Kuwata, Y. Kuboki [et al.] // *Gastric Cancer*. – 2017. – Vol. 20, № 3. – P. 407-415.

[77] Kim, J. Adjuvant Chemotherapy in Microsatellite Instability-High Gastric Cancer / J. Kim, S. Cho, J. Chae [et al.] // *Cancer Res Treat.* – 2020. – Vol. 52, № 4. – P. 1178-1187.

[78] Kim, J. Microsatellite instability status in gastric cancer: a reappraisal of its clinical significance and relationship with mucin phenotypes / J. Kim, N. Shin, A. Kim [et al.] // *Korean J Pathol.* – 2013. – Vol. 47, № 1. – P. 28-35.

[79] Kim, S. Comprehensive molecular characterization of clinical responses to PD-1 inhibition in metastatic gastric cancer / S. Kim, R. Cristescu, A. Bass [et al.] // *Nat Med.* – 2018. – Vol. 24, № 9. – P. 1449-1458.

[80] Kim, S. The benefit of microsatellite instability is attenuated by chemotherapy in stage II and stage III gastric cancer: Results from a large cohort with subgroup analyses / S. Kim, Y. Choi, J. An [et al.] // *International Journal of Cancer*. – 2015. – Vol. 137, № 4. – P. 819-825.

[81] Kim, S. Deregulation of immune response genes in patients with Epstein-Barr virus-associated gastric cancer and outcomes / S. Kim, C. Park, H. Kim [et al.] // *Gastroenterology*. – 2015. – Vol. 148, № 1. – P. 137-147.e9.

[82] Kim, T. The landscape of microsatellite instability in colorectal and endometrial cancer genomes / T. Kim, P. Laird, P. Park [et al.] // *Cell*. – 2013. – Vol. 155, № 4. – P. 858-68.

[83] Koh, J. Clinicopathologic implications of immune classification by PD-L1 expression and CD8-positive tumor-infiltrating lymphocytes in stage II and III gastric cancer patients / J. Koh, C. Ock, J. Kim [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, № 16. – P. 26356-26367.

[84] Kohlruss, M. Prognostic implication of molecular subtypes and response to neoadjuvant chemotherapy in 760 gastric carcinomas: role of Epstein-Barr virus infection and high- and low-microsatellite instability / M. Kohlruss, B. Grosser, M. Krenauer [et al.] // *J Pathol Clin Res*. – 2019. – Vol. 5, № 4. – P. 227-239.

[85] Kono, K. Current status of immune checkpoint inhibitors for gastric cancer

/ K. Kono, S. Nakajima, K. Mimura // *Gastric Cancer*. – 2020. – Vol. 23, № 4. – P. 565-578.

[86] Kotelnikova, E. Practical aspects of NGS-based pathways analysis for personalized cancer science and medicine / E. Kotelnikova, M. Pyatnitskiy, A. Paleeva [et al.] // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7, № 32. – P. 52493-52516.

[87] Kulangara, K. Clinical Utility of the Combined Positive Score for Programmed Death Ligand-1 Expression and the Approval of Pembrolizumab for Treatment of Gastric Cancer / K. Kulangara, N. Zhang, E. Corigliano [et al.] // *Arch Pathol Lab Med*. – 2019. – Vol. 143, № 3. – P. 330-337.

[88] Larkin, J. Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma / J. Larkin, V. Chiarion-Sileni, R. Gonzalez [et al.] // *N Engl J Med*. – 2015. – Vol. 373, № 1. – P. 23-34.

[89] Lauren P. The Two Histological Main Types of Gastric Carcinoma: Diffuse and So-Called Intestinal-Type Carcinoma. An Attempt at a Histo-Clinical Classification / P. Lauren // *Acta Pathol Microbiol Scand*. – 1965. – Vol. 64, № 1. – P. 31-49.

[90] Le, D. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade / D. Le, J. Durham, K. Smith [et al.] // *Science*. – 2017. – Vol. 357, № 6349. – P. 409-413.

[91] Le, D. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency / D. Le, J. Uram, H. Wang [et al.] // *N Engl J Med*. – 2015. – Vol. 372, № 26. – P. 2509-20.

[92] Lee, J. Frequent CpG island methylation in precursor lesions and early gastric adenocarcinomas / J. Lee, S. Park, S. Abraham [et al.] // *Oncogene*. – 2004. – Vol. 23, № 26. – P. 4646-54.

[93] Leite, M. MSI phenotype and MMR alterations in familial and sporadic gastric cancer / M. Leite, G. Corso, S. Sousa [et al.] // *Int J Cancer*. – 2011. – Vol. 128, № 7. – P. 1606-13.

[94] Li, Y. Efficacy and safety of preoperative immunotherapy in patients with mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high gastrointestinal malignancies / Y. Li, X. Liu, Y. Yao [et al.] // *World J Gastrointest Surg*. – 2023. – Vol. 15, № 2. – P. 222-233.

[95] Lin, J. Microsatellite instability in gastric carcinoma with special references to histopathology and cancer stages / J. Lin, M. Wu, C. Shun [et al.] // *Eur J Cancer*. – 1995. – Vol. 31a, № 11. – P. 1879-82.

[96] Liu, J. Integrated exome and transcriptome sequencing reveals ZAK isoform usage in gastric cancer / J. Liu, M. McClelland, E. Stawiski [et al.] // *Nature Communications*. – 2014. – Vol. 5, № 1. – P. 3830.

[97] Lu, Z. Tumor copy-number alterations predict response to immune-checkpoint-blockade in gastrointestinal cancer / Z. Lu, H. Chen, S. Li [et al.] // *J Immunother Cancer*. – 2020. – Vol. 8, № 2. – P. e000374.

[98] Lutz, M. The 4th St. Gallen EORTC Gastrointestinal Cancer Conference: Controversial issues in the multimodal primary treatment of gastric, junctional and oesophageal adenocarcinoma / M. Lutz, J. Zalcberg, M. Ducreux [et al.] // *Eur J Cancer*. – 2019. – Vol. 112, № 1. – P. 1-8.

[99] Ma, C. Programmed Death-Ligand 1 Expression Is Common in Gastric Cancer Associated With Epstein-Barr Virus or Microsatellite Instability / C. Ma, K. Patel, A. Singhi [et al.] // *Am J Surg Pathol*. – 2016. – Vol. 40, № 11. – P. 1496-1506.

[100] Mandard, A. Pathologic assessment of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy of esophageal carcinoma. Clinicopathologic correlations / A. Mandard, F. Dalibard, J. Mandard [et al.] // *Cancer*. – 1994. – Vol. 73, № 11. – P. 2680-6.

[101] Marabelle, A. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab: prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study / A. Marabelle, M. Fakih, J. Lopez [et al.] // *Lancet Oncol*. – 2020. – Vol. 21, № 10. – P. 1353-1365.

[102] Marabelle, A. Efficacy of Pembrolizumab in Patients With Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair-Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study / A. Marabelle, D. Le, P. Ascierto [et al.] // *J Clin Oncol*. – 2020. – Vol. 38, № 1. – P. 1-10.

[103] Marrelli, D. Strong Prognostic Value of Microsatellite Instability in

Intestinal Type Non-cardia Gastric Cancer / D. Marrelli, K. Polom, V. Pascale [et al.] // *Ann Surg Oncol.* – 2016. – Vol. 23, № 3. – P. 943-50.

[104] Mathiak, M. Clinicopathologic Characteristics of Microsatellite Instable Gastric Carcinomas Revisited: Urgent Need for Standardization / M. Mathiak, V. Warneke, H. Behrens [et al.] // *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* – 2017. – Vol. 25, № 1. – P. 12-24.

[105] McGrail, D. High tumor mutation burden fails to predict immune checkpoint blockade response across all cancer types / D. McGrail, P. Pilié, N. Rashid [et al.] // *Annals of Oncology.* – 2021. – Vol. 32, № 5. – P. 661-672.

[106] McGranahan, N. Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade / N. McGranahan, A. Furness, R. Rosenthal [et al.] // *Science.* – 2016. – Vol. 351, № 6280. – P. 1463-9.

[107] Miceli, R. Prognostic Impact of Microsatellite Instability in Asian Gastric Cancer Patients Enrolled in the ARTIST Trial / R. Miceli, J. An, M. Di Bartolomeo [et al.] // *Oncology.* – 2019. – Vol. 97, № 1. – P. 38-43.

[108] Middha, S. Reliable Pan-Cancer Microsatellite Instability Assessment by Using Targeted Next-Generation Sequencing Data / S. Middha, L. Zhang, K. Nafa [et al.] // *JCO Precis Oncol.* – 2017. – Vol. 1, № 1 – P. 1-17.

[109] Milne, N. Early Onset Gastric Cancer: On the Road to Unraveling Gastric Carcinogenesis / N. Milne, R. Sitarz, R. Carvalho [et al.] // *Current Molecular Medicine.* – 2007. – Vol. 7, № 1. – P. 15-28.

[110] Moarii, M. Integrative DNA methylation and gene expression analysis to assess the universality of the CpG island methylator phenotype / M. Moarii, F. Reyat, J. Vert // *Hum Genomics.* – 2015. – Vol. 9, № 1. – P. 26.

[111] Moehler, M. Phase III Trial of Avelumab Maintenance After First-Line Induction Chemotherapy Versus Continuation of Chemotherapy in Patients With Gastric Cancers: Results From JAVELIN Gastric 100 / M. Moehler, M. Dvorkin, N. Boku [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2021. – Vol. 39, № 9. – P. 966-977.

[112] Moreno-Cabrera, J. Evaluation of CNV detection tools for NGS panel data in genetic diagnostics / J. Moreno-Cabrera, J. Del Valle, E. Castellanos [et al.] // *Eur J*

Hum Genet. – 2020. – Vol. 28, № 12. – P. 1645-1655.

[113] Motzer, R. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma / R. Motzer, B. Escudier, D. McDermott [et al.] // N Engl J Med. – 2015. – Vol. 373, № 19. – P. 1803-13.

[114] Muro, K. Pembrolizumab for patients with PD-L1-positive advanced gastric cancer (KEYNOTE-012): a multicentre, open-label, phase 1b trial / K. Muro, H. Chung, V. Shankaran [et al.] // Lancet Oncol. – 2016. – Vol. 17, № 6. – P. 717-726.

[115] Muro, K. KEYNOTE-059 cohort 1: Pembrolizumab (Pembro) monotherapy in previously treated advanced gastric or gastroesophageal junction (G/GEJ) cancer in patients (Pts) with PD-L1+ tumors—Asian subgroup analysis / K. Muro, C. Fuchs, R. Jang [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2018. – Vol. 36, № 4_suppl. – P. 723-723.

[116] Murphy, K. Comparison of the microsatellite instability analysis system and the Bethesda panel for the determination of microsatellite instability in colorectal cancers / K. Murphy, S. Zhang, T. Geiger [et al.] // J Mol Diagn. – 2006. – Vol. 8, № 3. – P. 305-11.

[117] Nagtegaal, I. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system / I Nagtegaal, R. Odze, D. Klimstra [et al.] // Histopathology. – 2020. – T. 76, № 2. – C. 182-188.

[118] Nappo, F. Pattern of recurrence and overall survival in esophagogastric cancer after perioperative FLOT and clinical outcomes in MSI population: the PROSECCO Study / F. Nappo, L. Fornaro, L. Pompella [et al.] // J Cancer Res Clin Oncol. – 2023 – Vol. 149, № 2. – P. 6601–6611

[119] Noh, S. Adjuvant capecitabine plus oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): 5-year follow-up of an open-label, randomised phase 3 trial / S. Noh, S. Park, H. Yang [et al.] // Lancet Oncol. – 2014. – Vol. 15, № 12. – P. 1389-96.

[120] Nowak, J. Detection of Mismatch Repair Deficiency and Microsatellite Instability in Colorectal Adenocarcinoma by Targeted Next-Generation Sequencing / J. Nowak, M. Yurgelun, J. Bruce [et al.] // J Mol Diagn. – 2017. – Vol. 19, № 1. – P. 84-91.

[121] Oh, N. Microsatellite Instability and Effectiveness of Adjuvant Treatment in pT1N1 Gastric Cancer: A Multicohort Study / N. Oh, H. Kim, K. Kim [et al.] // *Ann Surg Oncol.* – 2021. – Vol. 28, № 13. – P. 8908-8915.

[122] Oki, E. Chemosensitivity and survival in gastric cancer patients with microsatellite instability / E. Oki, Y. Kakeji, Y. Zhao [et al.] // *Ann Surg Oncol.* – 2009. – Vol. 16, № 9. – P. 2510-5.

[123] Oliveira, A. Review of PD-1/PD-L1 Inhibitors in Metastatic dMMR/MSI Colorectal Cancer / A. Oliveira, L. Bretes, I. Furtado [et al.] // *Front Oncol.* – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 396.

[124] Ottini, L. Patterns of genomic instability in gastric cancer: clinical implications and perspectives / L. Ottini, M. Falchetti, R. Lupi [et al.] // *Ann Oncol.* – 2006. – Vol. 17 Suppl 7, № Q. – P. vii97-102.

[125] Overman, M. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study / M. Overman, R. McDermott, J. Leach [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2017. – Vol. 18, № 9. – P. 1182-1191.

[126] Panda, A. Immune Activation and Benefit From Avelumab in EBV-Positive Gastric Cancer / A. Panda, J. Mehnert, K. Hirshfield [et al.] // *J Natl Cancer Inst.* – 2018. – Vol. 110, № 3. – P. 316-320.

[127] Park, J. Prevention strategies for gastric cancer: a global perspective / J. Park, L. von Karsa, R. Herrero // *Clin Endosc.* – 2014. – Vol. 47, № 6. – P. 478-89.

[128] Parsonnet, J. Helicobacter pylori infection in intestinal- and diffuse-type gastric adenocarcinomas / J Parsonnet, D. Vandersteen, J. Goates [et al.] // *J Natl Cancer Inst.* – 1991. – Vol. 83, № 9. – P. 640-3.

[129] Pearlman, R. Two-stain immunohistochemical screening for Lynch syndrome in colorectal cancer may fail to detect mismatch repair deficiency / R. Pearlman, M. Markow, D. Knight [et al.] // *Mod Pathol.* – 2018. – Vol. 31, № 12. – P. 1891-1900.

[130] Petrillo, A. Nivolumab in Heavily Pretreated Metastatic Gastric Cancer Patients: Real-Life Data from a Western Population / A. Petrillo, G. Tirino, F. Zito

Marino [et al.] // *Onco Targets Ther.* – 2020. – Vol. 13, № 1. – P. 867-876.

[131] Phillips, S. Tumour-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer with microsatellite instability are activated and cytotoxic / S. Phillips, A. Banerjea, R. Feakins [et al.] // *Br J Surg.* – 2004. – Vol. 91, № 4. – P. 469-75.

[132] Pietrantonio, F. Individual Patient Data Meta-Analysis of the Value of Microsatellite Instability As a Biomarker in Gastric Cancer / F. Pietrantonio, R. Miceli, A. Raimondi [et al.] // *J Clin Oncol.* – 2019. – Vol. 37, № 35. – P. 3392-3400.

[133] Pietrantonio, F. INFINITY: A multicentre, single-arm, multi-cohort, phase II trial of tremelimumab and durvalumab as neoadjuvant treatment of patients with microsatellite instability-high (MSI) resectable gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma (GAC/GEJAC) / F. Pietrantonio, A. Raimondi, S. Lonardi [et al.] // *Journal of Clinical Oncology.* – 2023. – Vol. 41, № 4_suppl. – P. 358-358.

[134] Pinto, M. MSI-L gastric carcinomas share the hMLH1 methylation status of MSI carcinomas but not their clinicopathological profile / M. Pinto, C. Oliveira, J. Machado [et al.] // *Lab Invest.* – 2000. – Vol. 80, № 12. – P. 1915-23.

[135] Polom, K. Synchronous metastatic gastric cancer-molecular background and clinical implications with special attention to mismatch repair deficiency / K. Polom, C. Böger, E. Smyth [et al.] // *Eur J Surg Oncol.* – 2018. – Vol. 44, № 5. – P. 626-631.

[136] Polom, K. Meta-analysis of microsatellite instability in relation to clinicopathological characteristics and overall survival in gastric cancer / K. Polom, L. Marano, D. Marrelli [et al.] // *Br J Surg.* – 2018. – Vol. 105, № 3. – P. 159-167.

[137] Polom, K. The Role of Microsatellite Instability in Positive Margin Gastric Cancer Patients / K. Polom, D. Marrelli, E. Smyth [et al.] // *Surg Innov.* – 2018. – Vol. 25, № 2. – P. 99-104.

[138] Prall, F. Prognostic role of CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes in stage III colorectal cancer with and without microsatellite instability / F. Prall, T. Dührkop, V. Weirich [et al.] // *Hum Pathol.* – 2004. – Vol. 35, № 7. – P. 808-16.

[139] Qu, Y. Gene methylation in gastric cancer / Y. Qu, S. Dang, P. Hou // *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry.* – 2013. – Vol. 424, №

1. – P. 53-65.

[140] Raimondi, A. TremellImumab and Durvalumab Combination for the Non-Operative Management (NOM) of Microsatellite Instability (MSI)-High Resectable Gastric or Gastroesophageal Junction Cancer: The Multicentre, Single-Arm, Multi-Cohort, Phase II INFINITY Study / A. Raimondi, F. Palermo, M. Prisciandaro [et al.] // *Cancers (Basel)*. – 2021. – Vol. 13, № 11. – P. 2839

[141] Ratti, M. Microsatellite instability in gastric cancer: molecular bases, clinical perspectives, and new treatment approaches / M. Ratti, A. Lampis, J. Hahne [et al.] // *Cell Mol Life Sci*. – 2018. – Vol. 75, № 22. – P. 4151-4162.

[142] Reck, M. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer / M. Reck, D. Rodríguez-Abreu, A. Robinson [et al.] // *N Engl J Med*. – 2016. – Vol. 375, № 19. – P. 1823-1833.

[143] Ribic, C. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer / C. Ribic, D. Sargent, M. Moore [et al.] // *N Engl J Med*. – 2003. – Vol. 349, № 3. – P. 247-57.

[144] Rizvi, N. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer / N. Rizvi, M. Hellmann, A. Snyder [et al.] // *Science*. – 2015. – Vol. 348, № 6230. – P. 124-8.

[145] Robert, C. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation / C. Robert, G. Long, B. Brady [et al.] // *N Engl J Med*. – 2015. – Vol. 372, № 4. – P. 320-30.

[146] Rodriguez-Bigas, M. National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines / M. Rodriguez, C. Boland, S. Hamilton [et al.] // *J Natl Cancer Inst*. – 1997. – Vol. 89, № 23. – P. 1758-62.

[147] Rosenberg, J. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial / J. Rosenberg, J. Hoffman-Censits, T. Powles [et al.] // *Lancet*. – 2016. – Vol. 387, № 10031. – P. 1909-20.

[148] Sah, B. Neoadjuvant FLOT versus SOX phase II randomized clinical trial for patients with locally advanced gastric cancer / B. Sah, B. Zhang, H. Zhang [et al.] // Nat Commun. – 2020. – Vol. 11, № 1. – P. 6093.

[149] Sakuramoto, S. Adjuvant chemotherapy for gastric cancer with S-1, an oral fluoropyrimidine / S. Sakuramoto, M. Sasako, T. Yamaguchi [et al.] // N Engl J Med. – 2007. – Vol. 357, № 18. – P. 1810-20.

[150] Sargent, D. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer / D. Sargent, S. Marsoni, G. Monges [et al.] // J Clin Oncol. – 2010. – Vol. 28, № 20. – P. 3219-26.

[151] Sasako, M. Five-year outcomes of a randomized phase III trial comparing adjuvant chemotherapy with S-1 versus surgery alone in stage II or III gastric cancer / M. Sasako, S. Sakuramoto, H. Katai [et al.] // J Clin Oncol. – 2011. – Vol. 29, № 33. – P. 4387-93.

[152] Satoh, T. Exploratory subgroup analysis of patients with prior trastuzumab use in the ATTRACTION-2 trial: a randomized phase III clinical trial investigating the efficacy and safety of nivolumab in patients with advanced gastric/gastroesophageal junction cancer / T. Satoh, Y. Kang, Y. Chao [et al.] // Gastric Cancer. – 2020. – Vol. 23, № 1. – P. 143-153.

[153] Seymour, M. FOxTROT: an international randomised controlled trial in 1052 patients (pts) evaluating neoadjuvant chemotherapy (NAC) for colon cancer / M. Seymour, D. Morton, Investigators o. b. o. t. I. F. T. // Journal of Clinical Oncology. – 2019. – Vol. 37, № 15_suppl. – P. 3504-3504.

[154] Shia, J. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Part I. The utility of immunohistochemistry / J. Shia // J Mol Diagn. – 2008. – Vol. 10, № 4. – P. 293-300.

[155] Shitara, K. The association of tissue tumor mutational burden (tTMB) using the Foundation Medicine genomic platform with efficacy of pembrolizumab versus paclitaxel in patients (pts) with gastric cancer (GC) from KEYNOTE-061 / K. Shitara, M. Özgüroğlu, Y. Bang [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2020. – Vol. 38, №

15_suppl. – P. 4537-4537.

[156] Shitara, K. Pembrolizumab versus paclitaxel for previously treated, advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (KEYNOTE-061): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial / K. Shitara, M. Özgüroğlu, Y. Bang [et al.] // The Lancet. – 2018. – Vol. 392, № 10142. – P. 123-133.

[157] Shitara, K. Efficacy and Safety of Pembrolizumab or Pembrolizumab Plus Chemotherapy vs Chemotherapy Alone for Patients With First-line, Advanced Gastric Cancer: The KEYNOTE-062 Phase 3 Randomized Clinical Trial / K. Shitara, E. van Cutsem, Y. Bang [et al.] // JAMA Oncol. – 2020. – Vol. 6, № 10. – P. 1571-1580.

[158] Siegel, R. Cancer statistics, 2023 / R. Siegel, K. Miller, N. Wagle [et al.] // CA: A Cancer Journal for Clinicians. – 2023. – Vol. 73, № 1. – P. 17-48.

[159] Smyth, E. Mismatch Repair Deficiency, Microsatellite Instability, and Survival: An Exploratory Analysis of the Medical Research Council Adjuvant Gastric Infusional Chemotherapy (MAGIC) Trial / E. Smyth, A. Wotherspoon, C. Peckitt [et al.] // JAMA Oncol. – 2017. – Vol. 3, № 9. – P. 1197-1203.

[160] Sohn, B. Clinical Significance of Four Molecular Subtypes of Gastric Cancer Identified by The Cancer Genome Atlas Project / B. Sohn, J. Hwang, H. Jang [et al.] // Clin Cancer Res. – 2017. – Vol.. 23, № 15. – P. 4441-4449.

[161] Stelloo, E. Practical guidance for mismatch repair-deficiency testing in endometrial cancer /E. Stelloo, A. Jansen, E. Osse [et al.] // Ann Oncol. – 2017. – Vol. 28, № 1. – P. 96-102.

[162] Sunakawa, Y. Molecular classification of gastric adenocarcinoma: translating new insights from the cancer genome atlas research network / Y. Sunakawa, H. Lenz // Curr Treat Options Oncol. – 2015. – Vol. 16, № 4. – P. 17.

[163] Sung, H. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries / H. Sung, J. Ferlay, R. Siegel [et al.] // CA: A Cancer Journal for Clinicians. – 2021. – Vol. 71, № 3. – P. 209-249.

[164] Suraweera, N. Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR /N. Suraweera, A. Duval, M. Reperant [et al.] // *Gastroenterology*. – 2002. – Vol. 123, № 6. – P. 1804-11.

[165] Tabernero, J. Pembrolizumab with or without chemotherapy versus chemotherapy for advanced gastric or gastroesophageal junction (G/GEJ) adenocarcinoma: The phase III KEYNOTE-062 study / J. Tabernero, E. Cutsem, Y. Bang [et al.]// *Journal of Clinical Oncology*. – 2019. – Vol. 37, № 18_suppl. – P. LBA4007-LBA4007.

[166] Taube, J. Association of PD-1, PD-1 ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD-1 therapy / J. Taube, A. Klein, J. Brahmer [et al.] // *Clin Cancer Res*. – 2014. – Vol. 20, № 19. – P. 5064-74.

[167] Tsai, C. Is Adjuvant Chemotherapy Necessary for Patients with Deficient Mismatch Repair Gastric Cancer?-Autophagy Inhibition Matches the Mismatched / C. Tsai, T. Lin, S. Huang [et al.] // *Oncologist*. – 2020. – Vol. 25, № 7. – P. e1021-e1030.

[168] Twomey, J. Cancer Immunotherapy Update: FDA-Approved Checkpoint Inhibitors and Companion Diagnostics / J. Twomey, B. Zhang // *Aaps j*. – 2021. – Vol. 23, № 2. – P. 39.

[169] Umar, A. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability / A. Umar, C. Boland, J. Terdiman [et al.] // *J Natl Cancer Inst*. – 2004. – Vol. 96, № 4. – P. 261-8.

[170] van Velzen, M. MSI as a predictive factor for treatment outcome of gastroesophageal adenocarcinoma / M. van Velzen, S. Derks, N. van Grieken [et al.] // *Cancer Treat Rev*. – 2020. – Vol. 86, № 1. – P. 102024.

[171] Vasen, H. Revised guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (HNPCC): recommendations by a group of European experts / H. Vasen, I. Blanco, K. Aktan-Collan [et al.] // *Gut*. – 2013. – Vol. 62, № 6. – P. 812-23.

[172] Vos, E. Survival of Locally Advanced MSI high Gastric Cancer Patients Treated with Perioperative Chemotherapy: A Retrospective Cohort Study / E. Vos, S. Maron, R. Krell [et al.] // *Ann Surg*. – 2023. – Vol. 277, № 5. – P. 798-805.

[173] Vos, E. The interaction between microsatellite instability high (MSI high)

gastric cancer and chemotherapy on survival / E. Vos, S. Maron, R. Krell [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2021. – Vol. 39, № 3_suppl. – P. 244-244.

[174] Waalkes, A. Accurate Pan-Cancer Molecular Diagnosis of Microsatellite Instability by Single-Molecule Molecular Inversion Probe Capture and High-Throughput Sequencing / A. Waalkes, N. Smith, K. Penewit [et al.] // Clin Chem. – 2018. – Vol. 64, № 6. – P. 950-958.

[175] Wainberg, Z. Efficacy of Pembrolizumab Monotherapy for Advanced Gastric/Gastroesophageal Junction Cancer with Programmed Death Ligand 1 Combined Positive Score ≥ 10 / Z. Wainberg, C. Fuchs, J. Tabernero [et al.] // Clin Cancer Res. – 2021. – Vol. 27, № 7. – P. 1923-1931.

[176] Wang, F. Safety, efficacy and tumor mutational burden as a biomarker of overall survival benefit in chemo-refractory gastric cancer treated with toripalimab, a PD-1 antibody in phase Ib/II clinical trial NCT02915432 / F. Wang, X. Wei, F. Wang [et al.] // Ann Oncol. – 2019. – Vol. 30, № 9. – P. 1479-1486.

[177] Wang, F. The Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO): Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of gastric cancer, 2021 / F. Wang, X. Zhang, Y. Li [et al.] // Cancer Commun (Lond). – 2021. – Vol. 41, № 8. – P. 747-795.

[178] Wang, K. Exome sequencing identifies frequent mutation of ARID1A in molecular subtypes of gastric cancer / K. Wang, J. Kan, S. Yuen [et al.] // Nat Genet. – 2011. – Vol. 43, № 12. – P. 1219-23.

[179] Wang, S. Antigen presentation and tumor immunogenicity in cancer immunotherapy response prediction / S. Wang, Z. He, X. Wang [et al.] // Elife. – 2019. – Vol. 8, № 1. – P. e49020.

[180] Williams, D. Nonsense mediated decay resistant mutations are a source of expressed mutant proteins in colon cancer cell lines with microsatellite instability / D. Williams, M. Bird, R. Jorissen [et al.] // PLoS One. – 2010. – Vol. 5, № 12. – P. e16012.

[181] Wu, Y. PD-1 and PD-L1 co-expression predicts favorable prognosis in gastric cancer / Y. Wu, D. Cao, L. Du [et al.] // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8, № 38. – P. 64066-64082.

[182] Yamamoto, H. Microsatellite instability: an update / H. Yamamoto, K. Imai

// Arch Toxicol. – 2015. – Vol. 89, № 6. – P. 899-921.

[183] Yarchoan, M. PD-L1 expression and tumor mutational burden are independent biomarkers in most cancers / M. Yarchoan, L. Albacker, A. Hopkins [et al.] // JCI Insight. – 2019. – Vol. 4, № 6. – P. e126908.

[184] Yarchoan, M. Targeting neoantigens to augment antitumour immunity / M. Yarchoan, B. Johnson, E. Lutz [et al.] // Nat Rev Cancer. – 2017. – Vol. 17, № 4. – P. 209-222.

[185] Yoshida, K. Addition of Docetaxel to Oral Fluoropyrimidine Improves Efficacy in Patients With Stage III Gastric Cancer: Interim Analysis of JACCRO GC-07, a Randomized Controlled Trial / K. Yoshida, Y. Kodera, M. Kochi [et al.] // J Clin Oncol. – 2019. – Vol. 37, № 15. – P. 1296-1304.

[186] Yuza, K. Hypermutation and microsatellite instability in gastrointestinal cancers / K. Yuza, M. Nagashashi, S. Watanabe [et al.] // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8, № 67. – P. 112103-112115.

[187] Zang, Z. Exome sequencing of gastric adenocarcinoma identifies recurrent somatic mutations in cell adhesion and chromatin remodeling genes / Z. Zang, I. Cutcutache, S. Poon [et al.] // Nat Genet. – 2012. – Vol. 44, № 5. – P. 570-4.

[188] Zhang, M. The clinicopathological and prognostic significance of PD-L1 expression in gastric cancer: a meta-analysis of 10 studies with 1,901 patients / M. Zhang, Y. Dong, H. Liu [et al.] // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6, № 1. – P. 37933.

[189] Zhang, M. Expression of PD-L1 and prognosis in breast cancer: a meta-analysis / M. Zhang, H. Sun, S. Zhao [et al.] // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8, № 19. – P. 31347-31354.

[190] Zhang, Z. Efficacy and safety of neoadjuvant immunotherapy in patients with microsatellite instability-high gastrointestinal malignancies: A case series / Z. Zhang, S. Cheng, J. Gong [et al.] // Eur J Surg Oncol. – 2020. – Vol. 46, № 10 Pt B. – P. e33-e39.

[191] Zhao, P. Mismatch repair deficiency/microsatellite instability-high as a predictor for anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy efficacy / P. Zhao, L. Li, X Jiang [et al.] // J Hematol Oncol. – 2019. – Vol. 12, № 1. – P. 54.

[192] Zouridis, H. Methylation subtypes and large-scale epigenetic alterations in gastric cancer / H. Zouridis, N Deng, T. Ivanova [et al.] // *Sci Transl Med.* – 2012. – Vol. 4, № 156. – P. 156ra140.

[193] Zubarayev, M. Clinical and molecular prognostic markers of survival after surgery for gastric cancer: tumor-node-metastasis staging system and beyond / M. Zubarayev, E. Min, T. Son // *Transl Gastroenterol Hepatol.* – 2019. – Vol. 4, № 1. – C. 59.