

ДАНИШЕВИЧ АНАСТАСИЯ МИХАЙЛОВНА

**ИЗУЧЕНИЕ ФЕНО-ГЕНОТИПИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК
СПОРАДИЧЕСКОГО И НАСЛЕДСТВЕННОГО РАКА ЖЕЛУДКА
У ПАЦИЕНТОВ РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

1.5.7. Генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н.Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН Стилиди Иван Сократович).

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор,
академик Российской академии наук

Стилиди Иван Сократович

доктор медицинских наук

Любченко Людмила Николаевна

Официальные оппоненты:

Литвяков Николай Васильевич, доктор биологических наук, профессор РАН, заведующий лабораторией онковирусологии научно-исследовательского института онкологии филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр российской академии наук».

Носов Дмитрий Александрович, доктор медицинских наук, профессор РАН, заведующий онкологическим отделением противоопухолевой лекарственной терапии (с дневным стационаром) федерального государственного бюджетного учреждения «Центральная клиническая больница с поликлиникой» Управления делами Президента Российской Федерации.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова».

Защита состоится «10» апреля 2025 года в 13-00 часов на заседании диссертационного совета 21.1.032.01, созданного на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, по адресу: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по адресу: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24 и на сайте www.ronc.ru.

Автореферат разослан «.....» 2025 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Кадагидзе Заира Григорьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Рак желудка (РЖ) ежегодно занимает лидирующие позиции в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями (ЗНО) и представляет клинически и генетически гетерогенное заболевание. Актуальные гистопатологические системы классификации РЖ влияют на выбор тактики лечения, в частности, при эндоскопических или хирургических вмешательствах, однако не являются ориентиром для персонализации лечения РЖ.

С этой целью, с учетом соматического профиля опухолей, разработаны несколько систем молекулярной классификации РЖ, такие как классификация Европейской группы по созданию атласа генома рака (The Cancer Genome Atlas) и классификация Азиатской группы по исследованию рака (Asian Cancer Research Group). По совокупности данных этих классификаций наибольший интерес вызывает РЖ с микросателлитной нестабильностью и Эпштейн – Барр – ассоциированные опухоли, при которых отмечено наиболее благоприятное течение заболевания и выявлены молекулярные альтерации с потенциальной возможностью применения таргетной и иммунотерапии. На сегодняшний день клинически значимыми являются соматические мутации в генах *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, роль которых в фокусе РЖ предстоит изучить.

Генетически детерминированные формы РЖ в 1–3 % случаев ассоциированы с синдромами наследственного диффузного РЖ, аденокарциномы желудка с проксимальным полипозом и семейным РЖ кишечного типа. Также прослежена ассоциация РЖ с другими наследственными опухолевыми синдромами (НОС), которые чаще характеризуются аутосомно-доминантным типом наследования, высокой пенетрантностью, ранней манифестацией ЗНО и склонностью к развитию первично-множественных злокачественных новообразований (ПМЗН). Верифицированный диагноз НОС позволяет индивидуализировать тактику лечения, меры профилактики и алгоритм периодического обследования пациентов-носителей патогенных герминальных мутаций с целью раннего выявления рака других локализаций, а также идентифицировать родственников больного из группы высокого онкологического риска.

В России не существует унифицированной системы предиктивных и прогностических маркеров, не оценена частота мутаций в генах *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA* при РЖ. Работы, посвященные поиску наследственных форм РЖ, ограничены малыми группами пациентов или узким спектром изучаемых маркеров. Также отсутствуют единые методические рекомендации по медико-генетическому консультированию и ДНК-диагностике этой группы больных.

Цель исследования

Провести анализ фено-генотипических характеристик спорадического и наследственного рака желудка у пациентов российской популяции.

Задачи исследования

1. Определить частоту и клинические характеристики Эпштейн - Барр - ассоциированных и микросателлитно нестабильных форм рака желудка.
2. Оценить прогностическую значимость статуса микросателлитной нестабильности и вируса Эпштейн - Барр в опухоли при раке желудка.
3. Оценить частоту соматических мутаций в генах *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA* в опухолевой ткани желудка.
4. Оценить долю наследственных форм рака желудка у пациентов с клиническими признаками наследственного заболевания.
5. Изучить спектр и частоту клинически значимых герминальных вариантов у пациентов с подозрением на наследственно-ассоциированный рак желудка.

Методология и методы исследования

В исследование включены 310 биологических образцов больных РЖ с морфологически установленным диагнозом, которые проходили обследование или лечение на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с 1992 по 2020 гг. Пациенты рандомизированы на когорту I со sporadическим раком и когорту II с подозрением на наследственную форму РЖ. Когорта I включила 159 больных I–IV стадии РЖ, для которых в опухолевой ткани выполнена ДНК-диагностика вируса Эпштейн - Барр, оценка статуса микросателлитной нестабильности, исследование мутационного статуса генов *KRAS* (кодоны 12-13 экзона 2; кодон 61 экзона 3 и кодон 146 экзона 4), *BRAF* (кодонов 597-601 экзона 15; кодонов 542-546 экзона 10), *PIK3CA* (кодонов 1047-1049 экзона 21) с валидацией выявленных вариантов секвенированием по Сэнгеру.

Когорта II включала 151 пациента с подозрением на наследственную форму РЖ, которым проведено генотипирование герминальной ДНК с помощью массового параллельного секвенирования (next generation sequencing, NGS) кодирующей части 44 онкоассоциированных генов с использованием кастомной панели зондов, последующей биоинформатической обработкой, клинической интерпретацией данных и валидацией секвенированием по Сэнгеру.

По результатам молекулярно-генетического тестирования проведена оценка клинико-морфологических характеристик у больных sporadическим и наследственным РЖ в зависимости от статуса изучаемых маркеров. Выполнена статистическая оценка различий частоты изучаемых признаков, анализ общей выживаемости, а также оценка чувствительности и специфичности критериев отбора больных для поиска герминальных мутаций в генах, ответственных за развитие наследственных опухолевых синдромов при РЖ.

Научная новизна

Впервые в России выполнено молекулярно-генетическое тестирование большого объема биологических образцов и проведен анализ клинических данных больных РЖ за длительный период наблюдения. Установлена частота и охарактеризованы клинические особенности Эпштейн - Барр - ассоциированных и микросателлитно нестабильных опухолей желудка, а также определено прогностическое значение этих маркеров. Оценена частота полиморфизма «горячих» точек генов *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, в том числе в зависимости от статуса микросателлитной нестабильности и вируса Эпштейн - Барр. Определены частота, спектр наследственно-обусловленных форм РЖ в российской популяции пациентов.

Теоретическая и практическая значимость

Проведенное молекулярно-генетическое тестирование позволило оценить прогностическое значение статуса микросателлитной нестабильности и вируса Эпштейн – Барр при РЖ. Полученные результаты обозначили необходимость дальнейшего изучения клинического значения этих маркеров с помощью альтернативных методов диагностики, что откроет перспективу оптимизации подходов к лечению больных РЖ. Результаты массового параллельного секвенирования в группе пациентов с подозрением на наследственную форму РЖ позволят улучшить эффективность медико-генетического консультирования, увеличить частоту выявления наследственно-обусловленного РЖ и снизить риск заболеваемости вторыми первичными ЗНО у лиц с наследственными опухолевыми синдромами. Результаты исследования могут быть использованы в профессиональной деятельности врачей-онкологов, врачей лабораторной диагностики, генетиков, лабораторных генетиков, гастроэнтерологов в учреждениях онкологического и общего профилей.

Личный вклад

Автором проведён анализ литературы, подбор клинического материала, медико-генетическое консультирование, генотипирование биологических образцов, интерпретация результатов ДНК-диагностики, анализ полученных данных. Все данные и результаты, содержащиеся в диссертации, получены автором лично и представляют собой законченное самостоятельное научное исследование. Текст и выводы диссертации сформулированы и написаны автором.

Соответствие паспорту специальности

Диссертация соответствует паспорту специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, направлению исследований п.4 «Разработка и совершенствование программ скрининга и ранней диагностики», и паспорту специальности 1.5.7. Генетика, направлению исследований

п.19. «Генетика человека. Медицинская генетика. Наследственные болезни. Медико-генетическое консультирование. Болезни с наследственной предрасположенностью. Генетика старения. Иммуногенетика. Онкогенетика. Генетика поведения. Молекулярно-генетическая/биохимическая диагностика заболеваний человека. Фармакогенетика. Генотоксикология. Генетическая терапия».

Положения, выносимые на защиту

Частота Эпштейн – Барр - ассоциированного рака желудка составила 8,2 % ($n = 13/159$), средний возраст манифестации заболевания - 54,8 года, отмечено достоверное превалирование мужского пола (92,3 %; $p < 0,01$). Этот подтип характеризуется лучшим прогнозом ($p < 0,01$) в отличие от микросателлитно стабильного Эпштейн – Барр – негативного рака желудка, что отражено в 91,7 % общей выживаемости больных в течение 8 лет.

Микросателлитно нестабильный статус опухоли обнаружен в 13,2 % ($n = 21/159$) случаев рака желудка. В группе преобладали пациенты в возрасте старше 50 лет ($p < 0,01$), средний возраст манифестации рака - 62,1 года. Общая 8-летняя выживаемость пациентов с I-IV стадией заболевания составила 67,3%.

При исследовании клинически значимых вариантов в «горячих» точках генов *KRAS* и *PIK3CA* частота таковых составила 7,5 % и 2,5 % соответственно. Не выявлено мутаций в кодонах 597–601 гена *BRAF*. Совокупно доля клинически значимых вариантов в генах *KRAS* и *PIK3CA* при микросателлитно нестабильном раке желудка составила 19,0 % ($n = 4$) и 33,3 % ($n = 7$); при Эпштейн – Барр – ассоциированном подтипе выявлено 0% и 7,7 % ($n = 1$) вариантов соответственно. В 19,0 % (4/21) образцов рака желудка с микросателлитной нестабильностью выявлено сочетание вариантов генов *KRAS* и *PIK3CA*.

При исследовании пациентов с подозрением на генетическую патологию наследственный рак желудка выявлен у 8,6 % (13/151) пациентов в составе синдрома наследственного рака молочной железы и яичников (гены *BRCA1/2*), синдрома Линча (гены *MLH1* и *MSH2*), *TP53*-ассоциированного опухолевого синдрома (ген *TP53*), синдрома наследственного диффузного рака желудка (ген *CDH1*) и Ли – Фраумени – подобного синдрома (ген *CHEK2*).

У 15,2 % (23/151) пациентов с подозрением на наследственную форму заболевания выявлен 21 клинически значимый вариант нуклеотидной последовательности в генах, ассоциированных с наследственными опухолевыми синдромами, в гетерозиготной форме. Наибольшее число мутаций (66,7 %; 14/21) диагностировано в генах системы репарации путем гомологичной рекомбинации и в генах системы репарации неспаренных оснований.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования, в частности, определение статуса микросателлитной нестабильности, внедрено и используются в повседневной клинической практике ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Полученные данные о значении инфицирования вирусом Эпштейна-Барр, соматических мутаций в генах *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, а также спектре герминальных мутаций в группе пациентов с клиническими признаками наследственного заболевания внедрены в обучающий процесс врачей ординаторов, врачей-генетиков, врачей-лабораторных генетиков, а также применяются в ходе медико-генетического консультирования в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (акт внедрения от 06.06.2024 г).

Апробация

Апробация диссертации состоялась на научной конференции с участием лаборатории молекулярно-генетической диагностики отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей, поликлинического отделения, лаборатории клинической иммунологии и инновационных технологий консультативно-диагностического центра, отделения противоопухолевой лекарственной терапии №2, отделения абдоминальной онкологии №1 НИИ клинической онкологии им. академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова, лаборатории онкопротеомики отдела экспериментальной биологии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России «19» сентября 2023 года.

Материалы диссертации представлены на 53-й международной конференции European Human Genetics Virtual Conference ESHG2020.2 (онлайн формат, 2020), III Всероссийской конференции с международным участием «Опухолевые маркеры: фундаментальные и клинические аспекты» (Республика Алтай, г. Горно-Алтайск, 2021), Пятой международной научно-практической конференции «NGS в медицинской генетике» (г. Суздаль, 2021) и 56-й Международной конференции European Human Genetics Conference (гибридный формат, г. Глазго, Шотландия, 2023).

Публикации

Материалы диссертационного исследования изложены в 8 публикациях, из них 3 в научных журналах, которые внесены в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных результатов исследований.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 117 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования и их

обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 19 рисунками и 15 таблицами. Библиографический указатель содержит 217 источников (12 отечественных и 205 зарубежных).

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Характеристики исследованной группы

В исследование включены 310 биологических образцов пациентов с верифицированным диагнозом РЖ, проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина по поводу РЖ I–IV стадии в период с 1992 по 2020 гг. включительно. Все обследованные рандомизированы на 2 когорты.

В I когорту вошли 159 больных I–IV стадии всех гистологических подтипов со спорадическим РЖ. Средний возраст манифестации рака составил $55,9 \pm 14,6$ лет. Распределение по гистологическому типу: кишечный - 45,9% (n = 73), диффузный - 44,0 % (n = 70), смешанный - 10,1 % (n = 16). Заболевание диагностировано на I, II, III и IV стадиях в 13,2 % (n = 21), 20,1 % (n = 32), 35,2 % (n = 56) и 31,4 % (n = 50) случаях соответственно.

Предметом изучения в когорте I стали образцы периферической крови, нормальной и опухолевой ткани 159 пациентов. Коллекция включила 54 парных образца свежей нормальной и опухолевой послеоперационной ткани и 105 срезов FFPE. Образцы свежей ткани отбирали во время оперативного вмешательства, быстро замораживали и хранили при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Препараты FFPE содержали не менее 20 % опухолевых клеток по площади среза, периферическая кровь отбиралась в пробирки с EDTA.

Когорта II включала 151 пациента в возрасте 15-83 лет с установленным РЖ и подозрением на наличие наследственной формы РЖ.

Анализ семейного и личного анамнеза пациентов проводили согласно консенсусу экспертов Американского общества клинической онкологии (American Society of Clinical Oncology, ASCO). Отбор обследуемых выполняли с применением критериев Национальной комплексной онкологической сети (National Comprehensive Cancer Network, NCCN) для направления на консультацию врача-генетика и оценки генетического риска у больных РЖ при следующих условиях:

- РЖ с манифестацией заболевания в возрасте до 40 лет;
- РЖ в возрасте до 50 лет при наличии одного родственника III степени родства с РЖ;
- РЖ в любом возрасте при наличии двух и более родственников с РЖ I/II степени родства;
- РЖ и рак молочной железы (РМЖ) с манифестацией первого ЗНО в возрасте до 50 лет;

–РЖ в любом возрасте при наличии в семейном анамнезе случая РМЖ у родственника I или II степени родства, диагностированный в возрасте до 50 лет;

–РЖ в любом возрасте при наличии в семейном анамнезе ювенильных полипов или полипоза желудочно-кишечного тракта;

–РЖ в любом возрасте при наличии в семейной истории случаев ЗНО из спектра синдрома Линча (колоректальный рак, рак эндометрия, рак тонкой кишки или мочевыводящих путей);

–дополнительно включены больные РЖ с ПМЗН других локализаций.

Все пациенты когорты II разделены на две подгруппы: больные органспецифическим РЖ без ПМЗН – подгруппа IIА, и подгруппа РЖ в составе ПМЗН – IIВ. В подгруппу IIА включен 131 (86,8 %) пациент, средний возраст манифестации РЖ у пробандов составил $41,5 \pm 12,8$ года. Среди них 76 пациентов женского ($42,5 \pm 12,99$ года) и 55 мужского ($42,1 \pm 12,6$ года) пола. Распределение по гистологическому типу: кишечный - 18,3 % ($n = 24$), диффузный - 70,2 % ($n = 92$), смешанный - 3,8 % ($n = 5$), гистотип не установлен - 7,6% ($n = 10$).

В подгруппу IIВ включено 20 (13,2 %) пациентов, средний возраст которых составил $47,6 \pm 12,5$. Соотношение мужчин и женщин - 33,4 % ($n = 7$) / 66,7 % ($n = 14$). В 75,0 % ($n = 15$) случаев диагностировано два ЗНО, в 20,0 % ($n = 4$) – три ЗНО, в 5,0 % ($n = 1$) – четыре ЗНО. У 40,0% ($n = 8$) пробандов выявлено сочетание РМЖ и РЖ, у 62,5 % ($n = 5$) из них идентифицирован тройной негативный молекулярный подтип РМЖ. Сочетание РЖ и РТК выявлено в 10 % ($n = 2$) случаях, у 50,0 % ($n = 10$) больных диагностированы ЗНО других локализаций (рак легких, шейки матки, предстательной железы, яичников, эндометрия, меланома кожи). В 95,0 % случаев зарегистрированы метакронные ПМЗН; синхронные РЖ и рак шейки матки были выявлены у одной (5,0 %) пациентки.

Молекулярные методы исследования

Для всех образцов когорты I выполнена качественная оценка наличия ДНК вируса Эпштейн - Барр (ВЭБ), анализ статуса микросателлитной нестабильности (МСН) и поиск клинически значимых вариантов в «горячих» точка генов *KRAS*, *BRAF* и *PIK3CA*. ДНК ВЭБ в образцах РЖ выявляли с использованием коммерческого набора реагентов для определения ДНК ВЭБ методом ПЦР в режиме реального времени «РеалБест ДНК ВЭБ» (комплект 1) («Вектор Бест», Россия) на приборе ДТ-96 («НПФ ДНК-Технология», Россия). Ложноположительные/ ложноотрицательные результаты исключали, анализируя все образцы в двух повторах. Статус МСН определяли методом фрагментного анализа с использованием пяти квазимономорфных мононуклеотидных маркеров NR21, NR24, NR27, BAT25, BAT26 на платформе Beckman Coulter Genome Lab GeXP (Beckman Coulter, США). При отсутствии нарушений или нестабильности одного маркера статус опухоли определяли как

микросателлитно стабильный (MSS), при нестабильности двух или более маркеров – как опухоль с MSH. Поиск соматических мутаций в кодонах 12–13 (экзон 2), 61 (экзон 3) и 146 (экзон 4) гена *KRAS*, в кодонах 597–601 (экзон 15) гена *BRAF* и кодонах 542–546 (экзон 10), 1047–1049 (экзон 21) гена *PIK3CA* выполнен путем анализа кривых плавления с высоким разрешением после проведения ПЦР в режиме реального времени с применением праймеров и зондов на амплификаторе Rotor-Gene (QIAGEN, Германия).

Для поиска герминальных мутаций в образцах когорты II применяли кастомную панель, которая включала гены *APC*, *ATM*, *AXIN2*, *BARD1*, *BLM*, *BMPRIA*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *CDKN2A*, *CHEK2*, *DICER1*, *EPCAM*, *GALNT12*, *GREM1*, *MEN1*, *MLH1*, *MLH3*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *NF1*, *NTHL1*, *PALB2*, *PMS2*, *POLD1*, *POLE*, *PTCH1*, *PTCH2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RET*, *SMAD4*, *STK11*, *SUFU*, *TP53*, *TSC1*, *TSC2*, *VHL* и *WT1*. Для пробоподготовки была использована методика гибридизационного селективного обогащения фрагментами ДНК, относящимися к кодирующим областям генов с известным клиническим значением, с использованием панели зондов KAPA HYPER (Roche) по стандартному протоколу. Гибридизацию с таргетной панелью проводили также по стандартному протоколу Hyper (Roche) на платформе MiSeq (Illumina, США), версия реагентов MiSeq Reagent Kit v2 500-cycles.

Присутствие соматических и герминальных мутаций подтверждали путем очистки полученного ПЦР-продукта и прямого секвенирования по Сэнгеру на платформе Beckman Coulter Genome Lab GeXP (Beckman Coulter) согласно инструкции производителя.

Классификация выявленных вариантов нуклеотидной последовательности проводилась с применением рекомендаций по интерпретации данных секвенирования Американской коллегии медицинской генетики и геномики (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) и Ассоциации молекулярных патологов (Association for Molecular Pathology, AMP) [14].

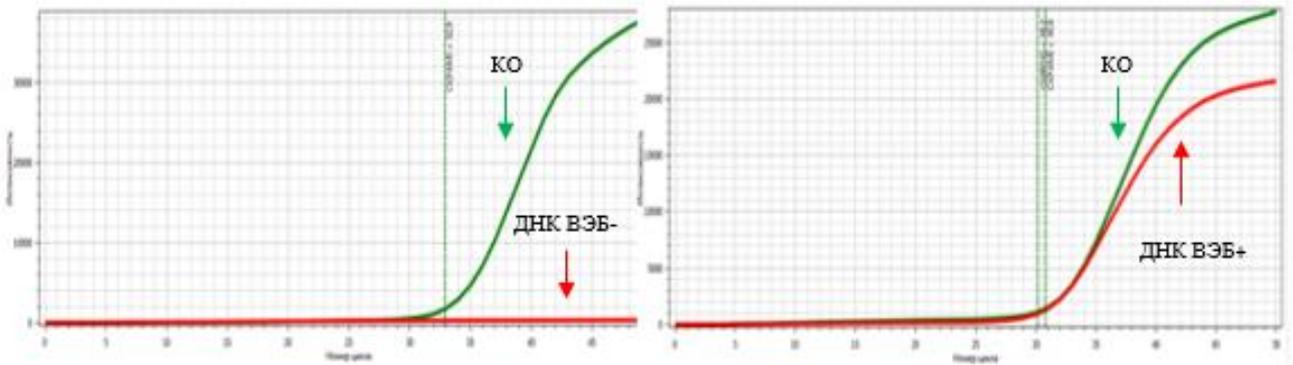
Статистический анализ

Статистический анализ проводили с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 8.0.0 (GraphPad Software, США).

Результаты исследования

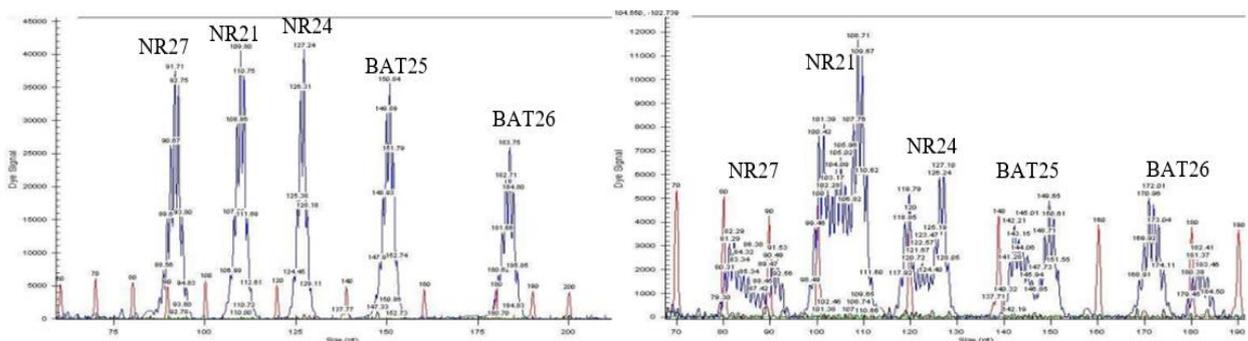
1. Изучение фено-генетических характеристик sporadического рака желудка

В результате проведенного исследования 159 биологических образцов когорты I со sporadическим раком желудка ДНК ВЭБ выявлена (ВЭБ⁺) в 8,2 % (n = 13) образцов (Рисунок 1), MSH обнаружена в 13,2 % (n = 21) (Рисунок 2).



1. Отсутствие ДНК ВЭБ

2. Наличие ДНК ВЭБ

Рисунок 1 – Качественная оценка наличия ДНК вируса Эпштейн – Барр (ВЭБ)

1. Микросателлитно стабильный статус

2. Микросателлитно нестабильный статус

Рисунок 2 – Оценка статуса микросателлитной нестабильности в опухолевой ткани РЖ

Достоверно чаще (92,3 %; $p < 0,01$) ВЭБ⁺ РЖ выявлен у пациентов мужского пола. В группе пациентов с МСН РЖ преобладали пациенты в возрасте старше 50 лет ($p < 0,01$). Клинические характеристики групп с Эпштейн - Барр - позитивным (ВЭБ⁺ РЖ), микросателлитно нестабильным (МСН РЖ) и Эпштейн - Барр – негативным микросателлитно стабильным раком желудка (ВЭБ⁺+МСС РЖ) представлены в таблице 1.

Медиана времени наблюдения от момента постановки диагноза в когорте I составила 31,3 мес. (95 %; ДИ 27,6–35,1 мес.), медиана общей выживаемости (ОВ) – 55,0 мес. ОВ (1-, 3- и 5-летняя) составила 84,6; 69,6 и 54,3 мес., соответственно.

Таблица 1 – Клинические характеристики больных РЖ когорты I

Клинические характеристики 159 (100 %)		ВЭБ ⁺ -группа 13 (8,2 %)	МСН-группа 21 (13,2 %)	ВЭБ ⁺ +МСС-группа 125 (78,6 %)
		абс./%		
Пол	Мужчины	12 (92,3)	10 (47,6)	54 (43,2)
	Женщины	1 (7,7)	11 (52,4)	71 (56,8)
Возраст манифестации, лет	16–49	10 (76,9)	5 (23,8)	86 (71,2)
	50–83	3 (23,1)	16 (76,2)	39 (28,8)
	Среднее ± SD	54,8 ± 11,9	62,1 ± 14,5	55,0 ± 14,7

Стадия	I	2 (15,4)	1 (4,8)	17 (13,6)
	II	4 (30,8)	6 (28,6)	22 (17,6)
	III	5 (38,5)	8 (38,1)	43 (34,4)
	IV	2 (15,4)	6 (28,6)	43 (34,4)
Гистологический тип по Лаурен	Кишечный	5 (38,5)	15 (71,4)	73 (58,4)
	Диффузный	6 (46,2)	4 (19,0)	60 (48,0)
	Смешанный	2 (15,4)	2 (9,5)	12 (9,6)
Локализация опухоли	Кардия	3 (23,1)	2 (9,5)	30 (24,0)
	Дно	3 (23,1)	1 (4,8)	7 (5,6)
	Тело	4 (30,7)	5 (23,8)	38 (30,4)
	Преддверие привратника	1 (7,7)	4 (19,0)	13 (10,4)
	Привратник	0 (0)	1 (4,8)	5 (4,0)
	Малая кривизна	1 (7,7)	3 (14,3)	3 (2,4)
	Большая кривизна	1 (7,7)	0 (0)	5 (4,0)
	Выходит за пределы указанных областей	0 (0)	5 (23,8)	24 (19,2)

В результате сравнения данных ОВ среди групп с различным статусом ВЭБ и МСН у пациентов с I–IV стадиями при ВЭБ-ассоциированном подтипе отмечен лучший прогноз, чем в группах с МСН ($p = 0,24$) и ВЭБ⁻ + МСС ($p = 0,04$) РЖ. Операбельный РЖ (I–III стадии) также был ассоциирован с лучшим прогнозом при ВЭБ⁺- подтипе в сравнении с МСН РЖ ($p = 0,06$) и ВЭБ⁻ + МСС РЖ ($p = 0,04$) (Рисунок 3).

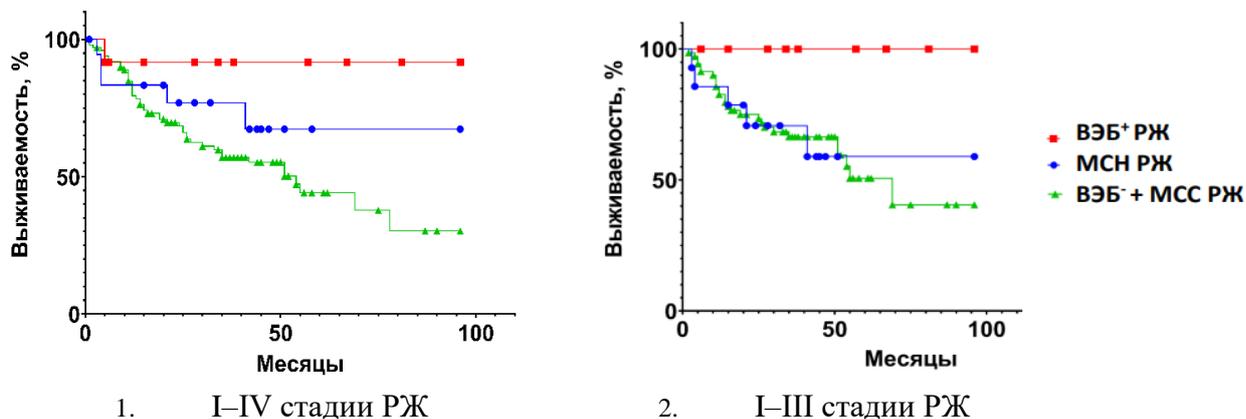


Рисунок 3 – Показатели общей выживаемости пациентов когорты I

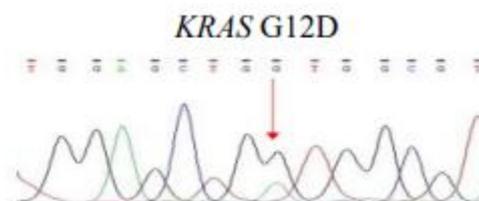
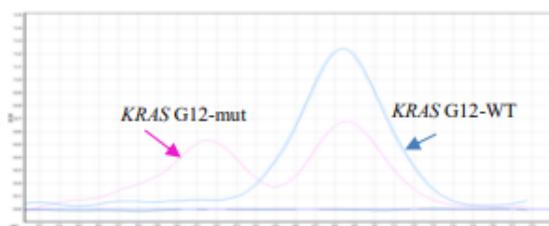
Статистически значимой разницы в показателях ОВ пациентов с МСН и ВЭБ⁻ + МСС не отмечено как в общей группе ($p = 0,6572$), так и при операбельных формах ($p = 0,2646$). 50 %-ная выживаемость достигнута в группе больных ВЭБ⁺+МСС.

При парных сравнениях показателей в группе больных I–IV стадиями РЖ выявлены статистически значимые различия 3- ($p = 0,04$), 5- ($p < 0,01$) и 8-летней ($p = 0,03$) ОВ между подгруппами ВЭБ⁺ и ВЭБ⁻ + МСС РЖ. Результаты анализа ОВ представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Общая выживаемость больных I-IV стадиями РЖ когорты I

Кол-во пациентов, n = 128	1-лет. ОВ, %	3-лет. ОВ, %	5-лет. ОВ, %	8-лет. ОВ, %	Медиана, мес.
ВЭБ ⁺ , n = 11	91,7	91,7	91,7	91,7	Не достигнута
МСН, n = 18	83,3	76,9	67,3	67,3	Не достигнута
ВЭБ ⁻ + МСС, n = 99	79,5	56,9	44,1	30,2	54

В ходе изучения статуса «горячих» точек генов *KRAS* и *PIK3CA* доля образцов с мутантным генотипом составила 7,5 % (n = 12) и 2,5 (n = 5 %) соответственно (Рисунок 4).



1. HRM – анализ статуса гена *KRAS*
2. Секвеннограмма и вариант G12D гена *KRAS*

Рисунок 4 – Поиск мутаций в «горячих» точках генов *KRAS*, *PIK3CA* и *BRAF* на примере варианта G12D в гене *KRAS*

В отличие от ВЭБ⁺-опухолей, где совокупно выявлен 1 (7,7 %) клинически значимый вариант в гене *PIK3CA*, МСН-фенотип характеризовался большим количеством соматических мутаций: 19,0 % (n = 4) варианта в гене *KRAS* и 33,3 % (n = 7) – в гене *PIK3CA* (Рисунок 5).

В гене *BRAF* (кодон 597–601) мутаций не выявлено.

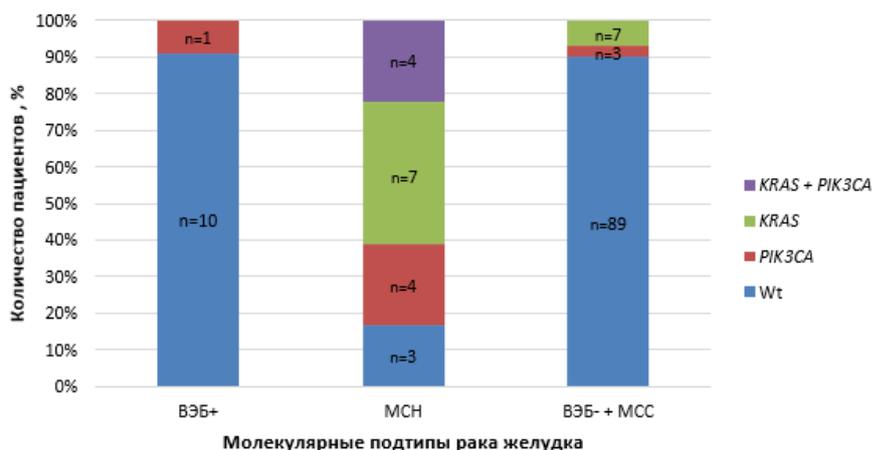


Рисунок 5 – Результаты генотипирования «горячих» точек генов *KRAS* и *PIK3CA*

В 19,0 % (4/21) образцов с МСН обнаружено сочетание вариантов в генах *KRAS* и *PIK3CA* (Таблица 3).

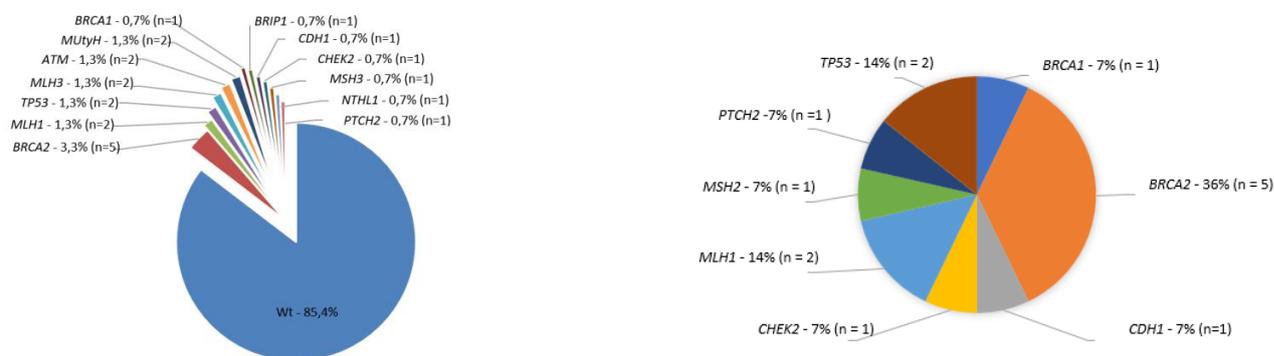
Таблица 3 – Спектр клинически значимых вариантов в генах *KRAS* и *PIK3CA*

Ген	Молекулярный подтип РЖ, число случаев (абс.)		
	ВЭБ+ РЖ	МСН РЖ	ВЭБ+ МСН РЖ
<i>KRAS</i>	Дикий тип	Дикий тип	G12A, 1 G12V, 1 G12D, 3 Q61E, 1
<i>PIK3CA</i>	Q546K, 1	Q546K, 1 H1047R, 2	E545K, 1 H1047R, 2
<i>KRAS</i> + <i>PIK3CA</i>	Дикий тип	<i>KRAS</i> G13D + <i>PIK3CA</i> E542K, 2 <i>KRAS</i> G13D + <i>PIK3CA</i> H1047R, 1 <i>KRAS</i> G12V + <i>PIK3CA</i> H1047R, 1	Дикий тип

2. Изучение фено-генотипических характеристик наследственного рака желудка

В результате NGS-генотипирования 151 образца геномной ДНК пациентов когорты II с подозрением на наследственную форму заболевания у 15,2 % (n = 23) пациентов выявлен 21 клинически значимый вариант нуклеотидной последовательности (ВНП) в генах, ассоциированных с развитием НОС, в гетерозиготной форме (Таблица 4). По функциональному значению выявленные ВНП распределились на нонсенс-варианты (42,9 %; n = 9), мутации со сдвигом рамки считывания (38,1 %; n = 8), миссенс-варианты (19,0 %; n = 4); мутации сайта сплайсинга (9,5 %; n = 2), делеции без сдвига рамки считывания (4,8 %; n = 1).

У 9,3 % (14/151) обследованных диагностированы патогенные и вероятно патогенные ВНП в генах с аутосомно-доминантным типом наследования. Обращает на себя внимание, что большую долю из них составили ВНП в генах *BRCA1/2* – 42,9 % (5 вариантов у 6 пациентов). (Рисунок 6).



1. Распределение пациентов в зависимости от генотипа
2. Структура патогенных и вероятно патогенных ВНП в генах НОС с аутосомно-доминантным типом наследования

Рисунок 6 – Результаты генотипирования образцов герминальной ДНК когорты II

Таблица 4 – Спектр и характеристики выявленных клинически значимых герминальных вариантов у больных когорты II

Номер варианта	Номер образца	Ген	Тип наследования	Транскрипт	Тип варианта	Положение варианта в гДНК	Аминокислотная замена	rs (dbSNP)	Клиническое значение варианта	
									Критерии ACMG	Clinvar
1	HC432	<i>BRCA1</i>	АД	NM_007294	frameshift_elongation	c.5266dup	p.Gln1756ProfsTer74	rs80357906	P	P
2	HC0059	<i>BRCA2</i>	АД	NM_000059	frameshift_truncation	c.3167_3170del	p.Gln1056ArgfsTer3	rs80359372	P	P
3	HC0526	<i>BRCA2</i>	АД	NM_000059	frameshift_elongation	c.5238dup	p.Asn1747Ter	rs80359499	P	P
4	HC0247	<i>BRCA2</i>	АД	NM_000059	frameshift_truncation	c.6595del	p.Thr2199LeufsTer7	-	P	-
5	HC0010 HC0014	<i>BRCA2</i>	АД	NM_000059	frameshift_truncation	c.9253del	p.Thr3085GlnfsTer19	rs80359752	P	P
6	HC0339	<i>CDH1</i>	АД	NM_004360	stop_gained	c.1596G>A	p.Trp532Ter	-	P	-
7	HC0029	<i>CHEK2</i>	АД	NM_007194	frameshift_truncation	c.1100del	p.Thr367MetfsTer15	rs555607708	P	P
8	HC0597	<i>MLH1</i>	АД	NM_000249	inframe_deletion	c.1852_1854del	p.Lys618del	rs63751247	P	P
9	HC0064	<i>MLH1</i>	АД	NM_000249	splice_site_variant	c.1990-2A>G	-	rs267607883	P	P
10	HC0065	<i>MSH2</i>	АД	NM_000251.3	stop_gained	c.577C>T	p.Gln193Ter	rs63751326	P	P
11	HC0049	<i>PTCH2</i>	АД	NM_003738	frameshift_truncation	c.2019del	p.Tyr674IlefsTer26	rs769826884	LP	VUS
12	HC0575	<i>TP53</i>	АД	NM_000546	missense_variant	c.488A>G	p.Tyr163Cys	rs148924904	P	P
13	HC0217	<i>TP53</i>	АД	NM_000546	missense_variant	c.799C>T	p.Arg267Trp	rs55832599	P	P/ LP

Продолжение таблицы 4

14	HC0370	<i>ATM</i>	АД/ АР	ENST00000278 616.8	stop_gained	c.5932G>T	p.Glu1978Ter	rs587779852	P	P
15	HC0053	<i>ATM</i>	АД/ АР	ENST00000278 616	stop_gained	c.7240C>T	p.Gln2414Ter	rs863224462	P	P
16	HC0027	<i>BRIP1</i>	АД/ АР	NM_032043	frameshift_truncation	c.128_131del	p.Leu43TrpfsTer11	rs1064794202	P	P
17	HC0589	<i>MLH3</i>	АД/ ?	NM_001040108	stop_gained	c.628C>T	p.Arg210Ter	rs770668994	VUS	VUS
18	HC0261	<i>MLH3</i>	АД/ ?	NM_001040108	frameshift_truncation	c.979_980del	p.Leu327AspfsTer2	rs1483852500	LP	-
19	HC0042	<i>MSH3</i>	АР	NM_002439	splice_site_variant	c.2813+1G>C	-	-	LP	-
20	HC0005 HC0246	<i>MUtyH</i>	АР	NM_001048174	missense_variant	c.1103G>A	p.Gly368Asp	rs36053993	P	P
21	HC0531	<i>NTHL1</i>	АР	NM_002528	stop_gained	c.244C>T	p.Gln82Ter	rs150766139	P/LP	Conf

Сокращения: АД – аутомно-доминантный тип наследования, АР – аутомно-рецессивный тип наследования, P (Pathogenic) – патогенный вариант, LP (Likely pathogenic) – вероятно патогенный вариант, VUS (Variant with uncertain significance) – вариант с неопределенным клиническим значением, Conf (Conflicting interpretations of pathogenicity) – вариант с конфликтом интерпретации патогенности

Среди всех ВМП 78,6 % (11/14) зарегистрированы в базах данных dbSNP, ClinVar, BRCAExchange, VarSome как патогенные клинически значимые варианты. Два ранее не зарегистрированные патогенные ВМП выявлены в генах *BRCA2* и *CDH1* (Рисунок 7); один вероятно патогенный ВМП диагностирован в гене *PTCH2*. Доля незарегистрированных патогенных и вероятно патогенных ВМП составила 14,3 % (2/14) и 7,1 % (1/14), соответственно.

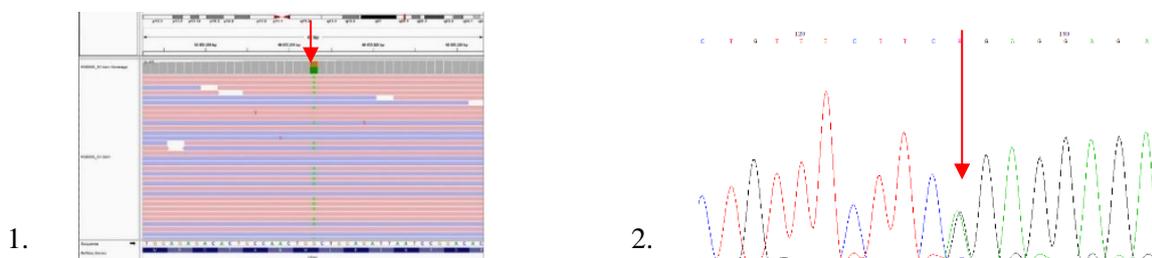


Рисунок 7 – Герминальный вариант с.1596G>A в гене *CDH1* в гетерозиготной форме, диагностированный с помощью NGS (1) и подтвержденный секвенированием по Сэнгеру (2)

К отдельной группе отнесены пациенты с мутациями в генах *ATM* (9,1 %, $n = 2$), *BRIP1* (4,6 %; $n = 1$), *MLH3* (9,1 %; $n = 2$) с неопределенным типом наследования и пенетрантностью в отношении РЖ. Наличие гетерозиготных ВМП в генах *MSH3* (4,6 %; $n = 1$), *MUTYH* (9,1 %; $n = 2$), *NTHL1* (4,6 %; $n = 1$) у обследованных расценено как носительство в связи с отсутствием в личном анамнезе полипоза желудочно-кишечного тракта.

Таким образом 66,7 % (14/21) мутаций было выявлено в генах системы репарации ДНК путем гомологичной рекомбинации (гены *BRCA1/2*, *CHEK2*, *ATM*, *BRIP1*) - 42,9 % (9/21) ВМП и системы репарации неспаренных оснований (гены *MLH1*, *MSH2*, *MLH3*) – 23,8 % (5/21) ВМП.

При изучении клинико-анамнестических характеристик носителей мутаций в генах, ассоциированных с НОС (Таблица 5), в подгруппе ПА с органспецифическим РЖ средний возраст манифестации опухоли составил $45 \pm 15,2$ года. В 72,7 % (8/11) случаев установлена IV стадия заболевания, с преимущественным поражением более одной топографической области желудка ($n = 4$; 36,4 %). В 45,5 % (5/11) случаев РЖ был представлен аденокарциномой диффузного типа, смешанный и кишечный типы диагностированы у 36,4% ($n = 4$) пациентов. Также интерес представлял РЖ в составе первично-множественных злокачественных новообразований (подгруппа ПВ), при котором средний возраст манифестации первого ЗНО составил $45,3 \pm 12,8$ года, средний возраст манифестации РЖ – $48,1 \pm 16,3$ года. В 85,7 % (6/7) случаев РЖ из подгруппы ПВ были представлены кишечным гистотипом. Соотношение выявленных ВМП в подгруппах ПА и ПВ составило 58,8 % ($n = 10$)/41,2 % ($n = 7$). В общей сложности 7,6 % (10/131) больных подгруппы ПА и 35,0 % (7/20) больных подгруппы ПВ являлись носителями мутаций в генах, ассоциированных с НОС ($p = 0,0021$; ОШ = 6,515; 95 % ДИ 2,233–20,60).

Таблица 5 – Основные клинико-anamnestические данные больных–носителей клинически значимых вариантов нуклеотидной последовательности когорты II в генах НОС с аутосомно-доминантным типом наследования

№ пациента	№ образца	Пол	Ген	Coding	Диагноз	Возраст манифестации	Локализация ЗНО	Стадия	Метастатические очаги	Гистологический тип	Классификация Loupen	Семейный анамнез (степень родства)- кол-во родственников
1	HC0059	М	<i>BRCA2</i>	c.3167_3170del	РЖ	52	Кардия	IV	Печень Легкие Брюшина	АК	Нд	РПеч (I) –1 РТМ (I) –1 РЖ (II) –1 РМЖ (II) –1 РТК (II) –1 РЖ/РТК (II) –1
2	HC0010	Ж	<i>BRCA2</i>	c.9253del	РЖ	50	>1 области	IV	Брюшина	Нд	Нд	РЖ (I) –1 РМЖ (II–IV) – 4 РТК (III) – 2
3	HC0014	Ж	<i>BRCA2</i>	c.9253del	РЖ	35	Тело	IV	Брюшина	АК с ПК компонентом	СМ	РЖ (I) –1 РМЖ (II–III) – 2 РТК (III) – 2 РМЖ (IV) – 2
4	HC0339	М	<i>CDH1</i>	c.1596G>A	РЖ	41	Тело	II	–	ПК	ДИФ	Но
5	HC0575	М	<i>TP53</i>	c.488A>G	РЖ	54	Кардия	IV	Брюшина	ПК	ДИФ	Саркома (I) -1 ОГМ/МТС в ГМ (I) -1
6	HC0029	Ж	<i>CHEK2</i>	c.1100del	РЖ	35	Дно	II	-	ПК	ДИФ	Но

Продолжение таблицы 5

7	HC0049	Ж	<i>PTCH2</i>	c.2019del	РЖ	37	Преддверие привратника	IV	Брюшина Яичники	АК с ПК компонентом	СМ	Но
8	HC0589	Ж	<i>MLH3</i>	c.628C>T	РЖ	76	>1 области	IV	Легкие	АК	КИШ	РЖ (I) – 1 РЖ (II) – 2
9	HC0261	Ж	<i>MLH3</i>	c.979_980 del	РЖ	39	>1 области	IV	Яичники, Забрюш. л/у Канцероматоз Асцит	ПК	ДИФ	Нд
10	HC0027	М	<i>BRIP1</i>	c.128_131 del	РЖ	23	>1 области	IV	Печень Брюшина	ПК	ДИФ	Но
11	HC432	Ж	<i>BRCA1</i>	c.5266dup	РЖ	45	Нд	Нд	Нд	Нд	Нд	РМЖ (?) – 1 РТМ (?) – 1
					РЯ	45	Нд	Нд	Нд	Нд	Нд	
12	HC0526	М	<i>BRCA2</i>	c.5238dup	РЖ	68	>1 области	IV	Печень	АК	КИШ	ЗНО неизвестной локализации
					РПрЖ	68	Нд	II	-	АК	-	
13	HC0247	Ж	<i>BRCA2</i>	c.6595del	РМЖ	37	-	IV	Нд	АК ТНМП	-	Но
					РЖ	40	Кардия	II	-	АК	КИШ	
14	HC0597	Ж	<i>MLH1</i>	c.1852_1854del	РМЖ	43	-	Нд	-	Нд	-	ТРК (I) – 3 РпрЖ (I) – 1 РТК (II) – 2 РМЖ (II) – 1
					РТМ	45	Эндо метрий	Нд	-	Нд	-	
					РЖ	54	Тело	I	-	Нд	КИШ	
					РТК	61	Сигмовидная кишка	III	-	АК	-	

15	НС0064	М	MLH1	с.1990– 2A>G	РЖ	27	Кардия	III	–	АК	КИШ	РТК (I) –1 РТМ/РТК (I) –1 РТК (II–III) – 2
					Карци– ноид	30	Тонкая кишка	–	–	–	–	
					РТК	31	Толстая кишки	I	–	Недифферен цированный рак	–	
16	НС0065	М	MSH2	с.577C>T	Рак сальных желез	65	Сальные железы спины и кисти	I	–	Плоскоклеточ ный	–	РТК (I) –1 РМП (I) –1 Рак ОЖРС (I) –1
					РМП	67	–	I	–	Нд	–	
					РЖ	69	Нд	III	–	АК	КИШ	
17	НС0217	М	TP53	с.799C>T	МК	32	Бедро	I	–	–	–	РЛ (I) –1
					РЖ	34	Кардия	I	–	АК	КИШ	

Сокращения: РПеч – рак печени, РТМ – рак тела матки, РЖ – рак желудка, РМЖ – рак молочной железы, РТК – рак толстой кишки, РМП – рак мочевого пузыря, РЛ – рак легких, ОГМ – опухоль головного мозга, МТС – метастазы, ГМ – головной мозг, РПрЖ – рак предстательной железы, РЯ – рак яичников, ТнК – тонкая кишка, ОЖРС – органы женской репродуктивной системы, Но – не отягощен, Нд – нет данных, ТНМП – тройной негативный молекулярный подтип, АК – аденокарцинома, ПК – перстневидноклеточный рак, КИШ – кишечный подтип по Лаурен, ДИФ – диффузный подтип по Лаурен, СМ – смешанный подтип по Лаурен.

Анализ родословных выявилотягощенный семейный анамнез у 45,5 % (5/11) пациентов – носителей мутации в подгруппе ПА, в подгруппе ПБ - у 71,4 % (5/7). При оценке критериев NCCN для отбора больных РЖ, нуждающихся в проведении ДНК-диагностики, чувствительность и специфичность таковых составила 9,4 % и 93,3 %, соответственно. Таким образом, 90,6 % случаев наследственного РЖ не соответствовали критериям NCCN (Таблица 6).

Таблица 6 – Данные семейного анамнеза пациентов-носителей мутации в генах, ассоциированных с наследственными опухолевыми синдромами, из когорты II

Степень родства	Количество родственников пробанда с ЗНО, абс./%		Количество родственников пробанда с РЖ, абс./%	
	Подгруппа ПА	Подгруппа ПБ	Подгруппа ПА	Подгруппа ПБ
I степень родства	5 (100,0 %);	3 (42,9 %)	3 (60,0 %)	-
II степень родства	4 (80,0 %);	2 (28,6 %)	2 (40,0 %)	-
III степень родства	2 (40,0 %);	1 (14,3 %)	-	-

В совокупности наследственно-ассоциированный РЖ выявлен при НОС с высокой и средней пенетрантностью у 8,6 % (n = 13) пациентов:

– синдром наследственного рака молочной железы и яичников (гены *BRCA1/2*; OMIM #612555, OMIM #604370) – в 4,0 % (n = 6) случаев;

– синдром Линча (гены *MLH1* и *MSH2*; OMIM #158320, #158320) – в 2,0 % (n = 3) случаев;

– *TP53*-ассоциированный опухолевый синдром (ген *TP53*, OMIM #151623) – в 1,3 % (n = 2) случаев;

– синдром наследственного диффузного РЖ (ген *CDH1*, OMIM #137215) – в 0,7 % (n = 1) случаев;

Ли – Фраумени-подобный синдром (ген *CHEK2*, OMIM #609265) – в 0,7 % (n = 1) случаев.

Пример родословных больных *BRCA2*-, *TP53*- и *CDH1* - ассоциированным РЖ представлен на рисунке 8.

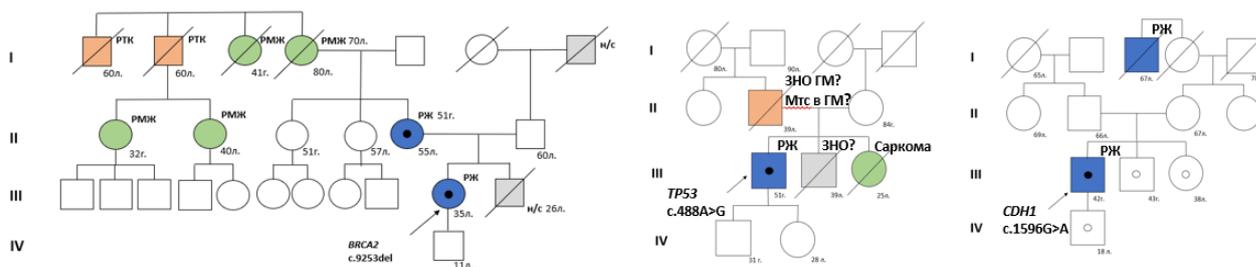


Рисунок 8 – Родословные больных с *BRCA2*-, *TP53* - и *CDH1* - ассоциированным РЖ

ВЫВОДЫ

1. Частота Эпштейн – Барр - ассоциированного рака желудка составила 8,2 %. Выявлена достоверная ассоциация этого подтипа рака желудка с мужским полом (92,3 %; $p < 0,01$).

2. Доля микросателлитно нестабильного рака желудка составила 13,2 %. Достоверно установлена взаимосвязь микросателлитной нестабильности с возрастом старше 50 лет ($p < 0,01$).

3. Эпштейн – Барр – ассоциированный рак желудка является прогностически благоприятным подтипом в сравнении с микросателлитно стабильным Эпштейн - Барр - негативным раком желудка ($p = 0,03$). Общая 8-летняя выживаемость больных Эпштейн – Барр - ассоциированным раком желудка составила 91,7 %, пациентов с микросателлитно нестабильным раком желудка - 67,3%.

4. Частота клинически значимых вариантов в «горячих» точках генов *KRAS* и *PIK3CA* при раке желудка составила 7,5 % и 2,5 % соответственно. Не выявлено мутаций в кодонах 597–601 гена *BRAF*. Совокупно доля клинически значимых вариантов в генах *KRAS* и *PIK3CA* при микросателлитно нестабильном раке желудка составила 19,0 % и 33,3 %; при Эпштейн – Барр – ассоциированном подтипе выявлено 0% и 7,7 % вариантов, соответственно. В 19,0 % образцов рака желудка с микросателлитной нестабильностью выявлено сочетание вариантов генов *KRAS* и *PIK3CA*.

5. Доля наследственно - ассоциированных форм рака желудка составила 8,6 % и представлена синдромом наследственного рака молочной железы и яичников в 4,0 % случаев; синдромом Линча – в 2,0 %; *TP53*-ассоциированным опухолевым синдром – в 1,3 %; синдром наследственного диффузного рака желудка – в 0,7 % и Ли – Фраумени-подобный синдром – в 0,7 % случаев.

6. У 15,2 % пациентов с подозрением на наследственную форму заболевания выявлен 21 клинически значимый вариант нуклеотидной последовательности в генах, ответственных за развитие наследственных опухолевых синдромов, в гетерозиготной форме. Большая доля (66,7 %) мутаций диагностирована в генах систем репарации ДНК: в генах системы репарации путем гомологичной рекомбинации *BRCA1/2*, *CHEK2*, *ATM*, *BRIP1* (42,9 %) и в генах системы репарации неспаренных оснований *MLH1*, *MSH2*, *MLH3* (23,8 %). В 17,4 % случаев выявлено гетерозиготное носительство вариантов в генах *MSH3*, *MUTYH*, *NTHL1* с аутосомно-рецессивным типом наследования, в 23,8 % случаях – носительство вариантов в генах *ATM*, *BRIP1*, *MLH3* с неопределенным типом наследования и пенетрантностью в отношении рака желудка.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Исследование вируса Эпштейн – Барр в образцах опухоли при раке желудка рекомендовано для определения прогноза заболевания и оценки потенциальной иммуногенности опухоли. До 90% случаев Эпштейн - Барр – положительного рак желудка ассоциированы с мужским полом. Для качественной оценки наличия ДНК вируса Эпштейн – Барр в опухолевой ткани рака желудка возможно применение метода ПЦР в режиме реального времени.

2. Исследование статуса микросателлитной нестабильности у больных раком желудка рекомендовано в качестве предиктивного и прогностического маркера. Тестирование микросателлитной нестабильности наиболее эффективно в группе больных старше 50 лет.

3. При отборе пациентов, нуждающихся в ДНК-диагностике для исключения наследственно-ассоциированной формы рака желудка, в российской популяции целесообразно применение следующих критериев: ранний возраст манифестации рака желудка; множественные случаи злокачественных новообразований в семейном анамнезе; первично-множественные злокачественные новообразования в личном и/или семейном анамнезе; гистологически верифицированный диффузный рак желудка по классификации Лаурен.

4. В ходе медико-генетического консультирования пациентов российской популяции с подозрением на наследственную форму рака желудка целесообразно проведение дифференциальной диагностики в первую очередь между синдромом наследственного диффузного рака желудка, синдромом Линча, синдромом наследственного *BRCA1/2* – ассоциированного рака молочной железы, *TP53* - ассоциированным наследственным опухолевым синдромом и Ли – Фраумени – подобным синдромом.

5. При проведении ДНК-диагностики у пациентов российской популяции с подозрением на наследственную форму рака желудка методом выбора является исследование таргетной панели генов. Минимальные требования к применяемой таргетной панели включают наличие в её составе генов *BRCA1/2*, *MLH1*, *MSH2*, *CDH1*, *CHEK2*, *TP53*.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Анализ полученных данных вносит вклад в развитие персонализированного лечения, диагностики и профилактики рака желудка и позволяют определить дальнейшие направления разработки темы:

1. Накопление данных о микросателлитно нестабильном и Эпштейн - Барр – ассоциированном раке желудка, а также раке желудка, ассоциированном с соматическими мутациями в генах *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, для составления клинического портрета заболевания и индивидуализации лечения пациентов российской популяции.

2. Исследование частоты микросателлитно нестабильных форм рака желудка с применением иммуногистохимического исследования, массового параллельного секвенирования и их сопоставление с результатами ПЦР-тестирования при раке желудка у пациентов из Российской Федерации.

3. Увеличение размера выборки больных раком желудка из России с подозрением на наследственный характер патологии для установления частоты рака желудка, ассоциированного с герминальными мутациями в генах *BRCA1/2*, *MLH1*, *MSH2*, *CDH1*, *CHEK2*, *TP53*, как на мультигенной панели, так с применением мультиплексной амплификации лигированных зондов.

4. Оценка частоты наследственных форм рака желудка у российских пациентов использованием полноэкзомного и полногеномного секвенирования с целью поиска новых генов-кандидатов наследственного рака желудка у пациентов российской популяции.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Данишевич, А. М. Структура соматических мутаций в генах KRAS, BRAF, PIK3CA и клинические характеристики ВЭБ-ассоциированного и микросателлитно-нестабильного рака желудка / А. М. Данишевич, Н. И. Поспехова, А. М. Строганова, Д. А. Головина, М. П. Никулин, А. Е. Калинин, С. Э. Николаев, И. С. Стилиди, Л. Н. Любченко. // Молекулярная биология. — 2023. — Т. 57 — № 1. — С. 71-84. (Журнал ВАК, Scopus, WOS).

2. Bilyalov, A. The Spectrum of Germline Nucleotide Variants in Gastric Cancer Patients in the Kyrgyz Republic. / A. Bilyalov, S. Nikolaev, **A. Danishevich**, I. Khatkov, K. Makhmudov, Z. Isakova, N. Bakirov, E. Omurbaev, A. Osipova, R. Ramaldanov, E. Shagimardanova, A. Kiyasov, O. Gusev, N. Bodunova. // Current Issues in Molecular Biology. — 2023. — №45. — С. 6383–6389. (Журнал ВАК, Scopus).

3. Bilyalov, A. Application of Multigene Panels Testing for Hereditary Cancer Syndromes. / A. Bilyalov, S. Nikolaev, L. Shigapova, I. Khatkov, **A. Danishevich**, L. Zhukova, S. Smolin, M. Titova, T. Lisica, N. Bodunova, E. Shagimardanova, O. Gusev. // MDPI. Biology. — 2022. — №11. — С.1461. (Журнал ВАК, Scopus).