

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КАК МАРКЕР ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА

А. Черноусов¹, академик РАН, профессор,
М. Немцова², доктор биологических наук, профессор,
Т. Хоробрых¹, доктор медицинских наук, профессор,
А. Удилова¹, **Д. Вычужанин**¹, кандидат медицинских наук,
Р. Нурутдинов¹, кандидат медицинских наук

¹Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

²Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

E-mail: vichy@list.ru

Использование молекулярно-генетических маркеров, которые связаны с течением болезни, прогнозом, ответом на проводимую терапию, а также риском развития побочных эффектов, поможет в разработке индивидуализированного подхода к лечению больных раком желудка.

Ключевые слова: рак желудка, молекулярно-генетические маркеры, тимидилатсинтаза, TP53, аллельный дисбаланс.

Рак желудка (РЖ) – 2-я по частоте причина смерти от злокачественных новообразований в мире. В структуре онкологической заболеваемости РЖ в России занимает 2-е место, уступая лишь раку легкого у мужчин и раку молочной железы у женщин.

Понятие «местнораспространенный рак желудка» (МРРЖ) до настоящего времени не стандартизировано и различными авторами понимается по-разному. На XII Российском онкологическом конгрессе (2008) было предложено разделить РЖ на 3 категории: ранний, местнораспространенный и генерализованный. Ранний РЖ (Tis, T1) подлежит хирургическому (отдельные формы – консервативному) лечению, выживаемость без дополнительных методов противоопухолевого воздействия весьма высока (как правило, >90%). В лечении генерализованного РЖ (M1), как и любого другого диссеминированного онкологического заболевания, основными являются химиотерапия и (или) таргетные препараты. Однако, несмотря на явный прогресс, результаты лечения все еще далеки от приемлемых. Что касается местнораспространенных форм (T2-4N0-3M0), то они, конечно, представляют весьма разнородную по распространенности и прогнозу группу опухолей – от IB до IV стадии, но их объединяет главное – все они требуют применения различных вариантов дополнительного противоопухолевого воздействия, т.е. комбинированного лечения [1].

Учитывая, что «золотым стандартом» лечения больных РЖ остается хирургическое вмешательство, основными для достижения успеха лечения требованиями являются максимально раннее выявление опухоли и ее резектабельность [2, 3].

Отдаленные результаты хирургического лечения РЖ зависят от стадии заболевания, гистологической структуры опухоли, характера выполненного оперативного лечения (радикальное – R0 или паллиативное – R1/R2), своевременности начатого лечения и (за исключением ранних стадий) остаются малоутешительными, так как радикальность большинства операций носит условный характер [1]. Это связано с тем, что большин-

ство больных поступают на лечение с местнораспространенными или генерализованными формами опухолевого процесса. Причиной неудовлетворительных результатов лечения данной категории пациентов является прогрессирование заболевания: местный рецидив и генерализация процесса [4, 5].

Поражение регионарных лимфатических узлов (ЛУ) – один из ведущих прогностических факторов. Наиболее часто при РЖ поражаются ЛУ 1-го и 2-го уровня. Объем лимфаденэктомии зависит от радикальности вмешательства. D1 (стандартная лимфаденэктомия) – удаление ЛУ 1–6-й групп; стандартная радикальная (D2) – удаление ЛУ 1–11-й групп; D2.5 – в дополнение к объему D2 выполняется удаление клетчатки печеночно-двенадцатиперстной связки и верхних ретропанкреатических ЛУ 1–13-й групп (Japanese Classification of Gastric Cancer, 1998), D3 (расширенная радикальная) – дополнительно выполняется парааортальная лимфаденэктомия [6, 7]. Принципиальное удаление лимфатических узлов 1-го и 2-го уровня (D2) – стандартный объем вмешательства на лимфатической системе при РЖ в ряде стран, так как оно позволяет улучшить 5-летнюю выживаемость некоторых категорий больных. В Японии лимфаденэктомия в объеме D2 является стандартом лечения РЖ [8–10]. Однако в ряде стран (Великобритания, Нидерланды) после проведения рандомизированных исследований не отмечалось преимуществ лимфаденэктомии D2 перед D1, поэтому вопрос о «золотом стандарте» объема лимфаденэктомии в настоящее время остается дискуссионным [11, 12].

Однако несмотря на значительные достижения в хирургическом лечении РЖ, даже при полном удалении первичной опухоли и увеличении объема лимфаденэктомии зачастую отмечается прогрессирование заболевания за счет имплантационного метастазирования с диссеминацией опухоли по брюшине и развитием канцероматоза, который является наиболее частой причиной интраперитонеального рецидива заболевания и генерализации процесса, что чаще возникает при выходе опухоли за пределы желудочной стенки (T4) и обуславливает в дальнейшем крайне неблагоприятный прогноз [13, 14].

Имплантационный путь метастазирования РЖ приводит к канцероматозу брюшины у 30–40% оперированных и является одной из ведущих причин смерти больных. Некоторые морфологические формы рака (перстневидноклеточный, недифференцированный, диффузно-инфильтративный) отличаются высокой способностью к имплантационному метастазированию, при этом, несмотря на отсутствие метастазов в регионарных ЛУ, комплексы раковых клеток обнаруживают непосредственно в перигастральной клетчатке, что может рассматриваться как начальная стадия канцероматоза. При указанных формах РЖ с высоким риском имплантационного метастазирования расширенная D2-лимфаденэктомия не дает должного эффекта [14, 15].

Улучшение результатов хирургии РЖ связывают с поиском возможностей предупреждения имплантационного метастазирования, когда диссеминация по брюшине происходит в результате распространения опухолевых клеток через свободную брюшную полость, минуя лимфатический барьер [16].

В последние 15 лет возрос интерес к изучению эффективности внутрибрюшного введения противоопухолевых препаратов при РЖ как способа профилактики и лечения канцероматоза брюшины [16–18].

Наряду с этим продолжают попытки улучшить отдаленные результаты с помощью адьювантной и неoadьювантной системной полихимиотерапии. Перспективность этих методов не вызывает сомнений, однако они направлены в основном на профилактику гематогенного и лимфогенного метастазирования РЖ.

Поэтому необходим поиск индивидуальных прогностических критериев, к которым можно отнести как молекулярно-генетические свойства опухоли, так и генетические особенности организма, в котором опухоль развивается. Оценка молекулярно-генетических изменений опухолевого генома и изучение особенностей генетического фона организма-хозяина, возможно, станут факторами прогноза эффективности комбинированного лечения РЖ. Информацию о генетических изменениях можно использовать для персонализированного подхода в лечении больных местнораспространенным РЖ.

Активно разрабатываются и внедряются в клиническую практику дополнительные молекулярно-генетические маркеры, которые характеризуют степень агрессивности опухолевого процесса и, кроме того, позволяют индивидуализировать прогноз клинического течения и чувствительности опухоли к проводимой терапии. К этим онкологическим маркерам можно отнести структурные и функциональные повреждения, выявляемые в геноме опухолевой клетки.

Аллельный дисбаланс (аллельные делеции, потеря гетерозиготности) является событием, происходящим в опухолевой клетке. Он проявляется делецией участка, инсерцией одного из аллелей гена или полной потерей хромосомы (участка хромосомы), в которой ген локализуется. В результате аллельного дисбаланса часто происходит инактивация гена-супрессора опухолевого роста вследствие делеции участка хромосомы, содержащей этот ген. Особенно важным признаком для течения злокачественного процесса является потеря областей хромосом, включающих известные гены-супрессоры и хранители клеточного цикла – такие, как *TP53*, *RUNX3*, *RBI*, *P15*, *P16*, *P14/ARF*, *BRCA1* и др. [19–21].

Делецию локуса хромосомы 17, в котором расположен ген *TP53*, наряду с локусами других генов-супрессоров, изучают с целью использования его в качестве прогностического маркера эффективности проводимой химиотерапии. Инактивация определенных генов-супрессоров может влиять на клинические свойства опухоли и определять ее ответ на проводимое лечение. Сегодня существует достаточное количество работ, которые изучают повреждения гена *TP53* в качестве клинического маркера, связанного с лечением различных типов рака, но выводы весьма неоднозначны. Одни авторы отмечают статистически достоверное повышение резистентности к проводимой неоадьювантной химиотерапии (5-фторурацил + цисплатин) при РЖ у больных, в опухоли которых выявлена делеция локуса 17p13.1 [22]. Другие сообщают, что делеция локуса 17p13.1, напротив, ассоциирована с лучшим клиническим ответом на химиотерапию с применением цисплатина при РЖ [23, 24].

В качестве клинического маркера опухоли можно использовать не только делеции, инсерции и хромосомные перестройки, но и наличие мутаций в различных генах, связанных с опухолевым ростом. Для выявления РЖ часто исследуют мутации в гене Е-кадгерина (*CDH1*).

Функциональная активность генов может быть существенно изменена в результате генетического полиморфизма. Полиморфные варианты представляют собой изменения в нуклеотидной последовательности гена, совместимые с его нормальной функцией, но приводящие к появлению несколько измененных белковых продуктов. В результате последние могут выполнять свои функции недостаточно активно или, наоборот, более активно, чем в норме [25]. Очевидно, что ответ на химиотерапию может различаться у индивидуумов с различными по функциональной активности аллелями генов, контролирующих лекарственный метаболизм используемых препаратов.

Тимидилатсинтаза (ТС) – фермент, метаболизирующий реакцию превращения уридина в тимидин и участвующий в синтезе *de novo* нуклеотидных оснований. Главным действием 5-фторурацила (5-ФУ) является ингибирование активности ТС, что приводит к снижению внутриклеточного уровня тимидина, а затем к гибели клеток [26, 27]. Функциональная активность фермента ТС модулируется влиянием полиморфных вариантов в ДНК гена *TYMS*, которые находятся в регуляторной области. Активность ТС имеет особое значение в быстро делящихся опухолевых клетках, именно в них осуществляется основная функция фермента, связанная с поддержанием высокой скорости репликации ДНК. Цитотоксическое действие 5-ФУ связано с блокированием действия ТС, поэтому более высокая экспрессия ТС приводит к повышению резистентности к 5-ФУ.

Уровень экспрессии гена ТС непосредственно коррелирует с эффективностью терапии 5-ФУ [28]: считается, что она выше у пациентов с низкой экспрессией ТС [29].

На активность ТС влияют полиморфные варианты нуклеотидной последовательности гена *TYMS* [30, 31]. В 5'-нетранслируемой области (UTR) ген *TYMS* содержит тандемный повтор нуклеотидов из 28 нуклеотидных оснований. Полиморфизм заключается в изменении количества повторов, один аллельный вариант содержит 2 повтора (2R), другой – 3 повтора (3R). Также возможна замена одного нуклеотида С на G во 2-м тандемном повторе в 3R-аллеле. Третий полиморфный вариант является следствием делеции участка 6-bp в 3'-нетранслируемой области (UTR) [32]. В серии исследований показано, что наличие 2 повторов (2R), а также С-аллель характеризуются более низкой экспрессией и, соответственно, более низкой ферментативной активностью ТС, чем аллель, содержащий 3 повтора (3R), и G-аллель [33–35]. Ассоциация полиморфизмов ТС с эффективностью лечения 5-ФУ больных РЖ, подтвержденная на клиническом материале, позволит использовать их в качестве дополнительных индивидуальных факторов прогноза и выявлять пациентов с низкой чувствительностью к 5-ФУ.

Другим примером влияния полиморфизмов в ДНК на активность генов, а следовательно, связанных с эффективностью лечения больных РЖ, являются полиморфные варианты гена *TP53*. Этот онкосупрессор находится в хромосоме 17p в локусе 13.1, состоит из 11 экзонов и известен как «сторож генома», контролирующей процессы роста и деления клеток. Функция гена состоит в том, что его белковый продукт вызывает задержку клеточного цикла для клетки, в которой возникло повреждение ДНК, до момента его репарации, если исправление повреждения невозможно, то происходит индукция апоптоза для этой клетки.

Известно несколько полиморфных вариантов гена *TP53*, влияющих на его активность. Наиболее хорошо изучен экзонный полиморфизм, замена нуклеотида G (гуанин) на C (цитозин) в 72-м кодоне 4-го экзона, которая приводит к замене аргинина (Arg) на пролин (Pro). Показано, что носители *TP53⁷²Arg* ассоциированы с лучшей выживаемостью (по сравнению с носителями *TP53⁷²Pro*) при раке молочной железы и РЖ на фоне проводимой адьювантной химиотерапии [36, 37]. Другой полиморфизм гена *TP53* заключается в удвоении (инсерция) участка из 16 пар оснований – 5'-gacctggaggctggg 3' (16 bp – base pair) в 3-м интроне. Литературные данные об этом полиморфизме разноречивы: одни авторы показали ассоциацию между инсерцией 16 bp и риском возникновения рака яичника и рака легкого [38, 39], другие не отметили корреляции между наличием аллеля *TP53³+16* в геномном типе с риском

развития рака молочной железы, яичников и мочевого пузыря [40, 41]. При этом ранее не изучалась взаимосвязь между эффективностью химиотерапии и данным полиморфизмом.

В целом можно сказать, что генетические полиморфизмы определяют индивидуальные различия в фармакодинамике и фармакокинетике лекарственных препаратов, в связи с чем анализ ДНК-полиморфизмов может оказаться перспективным инструментом для разработки персонализированных схем лечения.

Таким образом, важной научно-практической задачей представляется определение молекулярно-генетических маркеров, связанных с течением заболевания, прогнозом, ответом на лечение, риском развития побочных эффектов. Решение этой задачи позволит использовать их в прогнозировании отдаленных результатов лечения и выборе индивидуальной терапии с максимальной эффективностью.

Литература

1. Скоропад В.Ю. Рациональная тактика лечения местно-распространенного рака желудка: место лучевой терапии // *Практ. онкол.* – 2009; 1: 28–35.
2. Whiting J., Sigurdsson A., Rowlands D. et al. The long term results of endoscopic surveillance of premalignant gastric lesions // *Gut.* – 2002; 50: 378–81.
3. Yoshino K., Hirakawa K., Nakajima T. et al. Meeting report of the 74th Congress of the Japanese Gastric Cancer Association // *Gastric. Cancer.* – 2002; 5: 185–93.
4. Hamilton S., Altonen L. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the digestive system / Lyon, 2005; p. 314.
5. Пальцев М.А., Залетаев Д.В. Системы генетических и эпигенетических маркеров в диагностике онкологических заболеваний / М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2009; 384 с.
6. Japanese Classification of Gastric Cancer. 2nd English Edition. JGCA // *Gastric. Cancer.* – 1998; 1 (1): 10–24.
7. Japanese Research Society for Gastric Cancer. The General Rules for the Gastric Cancer Study in Surgery and Pathology // *Jpn. J. Surg.* – 1981; 11 (2): 127–39.
8. Sawai K., Takahashi T., Suzuki H. New trends in surgery for gastric cancer in Japan // *J. Surg. Oncol.* – 1994; 56: 221–6.
9. Maruyama K., Sasako M., Kinoshita T. et al. Can sentinel node biopsy indicate rational extent of lymphadenectomy in gastric cancer surgery? Fundamental and new information on lymph node dissection // *Langenbeck's Arch. Surg.* – 1999; 384: 149–57.
10. Shimoyama S. Current treatment Strategies for Early Gastric Cancer. The Diversity of Gastric Carcinoma. 2005; 253–70.
11. Cuschieri A., Weeden S., Fielding J. et al. Patient survival after D1 and D2 resection for gastric cancer: long-term results of the MRC randomized surgical trial. // *Br. J. Cancer.* – 1999; 79: 1522–30.
12. Bonenkamp J., Hermans J., Sasako M. et al. Extended lymph node dissection for gastric cancer // *N. Engl. J. Med.* – 1999; 340: 908–14.
13. Kurita A., Takashima S., Takayama T. et al. Intraperitoneal chemotherapy for gastric carcinoma combined with peritoneal dissemination by intraperitoneal catheter with a subcutaneous reservoir // *Jpn. J. Cancer Chemother.* – 1994; 21 (14): 2439–44.
14. Kang Y., Choi D., Im Y. et al. A phase III randomized comparison of neoadjuvant chemotherapy followed by surgery versus surgery for locally advanced stomach cancer // *Proc. ASCO.* – 1996; 15: 215.
15. Неред С.Н., Клименков А.А., Стилиди И.С. и др. Хирургическое и комбинированное лечение больных раком желудка с высоким риском имплантационного метастазирования // *Вопр. онкол.* – 2005; 1: 75–80.
16. Yonemura Y. A new treatment strategy for peritoneal dissemination – peritonectomy intraoperative chemo– hyperthermia and EPIC. 4th International gastric cancer congress. New York, 2001 April 29–May 2; p. 335.
17. Fujimoto S., Takahashi M., Mutou T. et al. Successful intraperitoneal hyperthermic chemoperfusion for the prevention of postoperative peritoneal recurrence in patients with advanced gastric carcinoma // *Cancer.* – 1999; 85: 529–34.
18. Hirose K., Katayama K., Iida A. et al. Efficacy of continuous hyperthermic peritoneal perfusion for the prophylaxis and treatment of peritoneal metastasis of advanced gastric cancer: evaluation by multivariate regression analysis. // *Oncology.* – 1999; 57: 106–14.
19. Li Q., Ito K., Sakakura C. et al. Causal relationship between the loss of RUNX3 expression and gastric cancer // *Cell.* – 2002; 109: 113–24.
20. Hong S., Jeon E., Oh J. et al. The gene-reduction effect of chromosomal losses detected in gastric cancers // *BMC Gastroenterology.* – 2010; 10: 138.
21. Ottini L., Falchetti M., Lupi R. et al. Patterns of genomic instability in gastric cancer: clinical implications and perspectives // *Ann. Oncol.* – 2006; 17 (7): 97–102.
22. Yashiro M., Inoue T., Nishioka N. Allelic Imbalance at p53 Microsatellite Instability Are Predictive Markers for Resistance to Chemotherapy in Gastric Carcinoma // *Ann. Surg. Oncol.* – 2009; 16 (10): 2926–35.
23. Grundei T., Vogelsang H., Ott K. et al. Loss of heterozygosity and microsatellite instability as predictive markers for neoadjuvant treatment in gastric carcinoma // *Clin. Cancer Res.* – 2000; 6: 4782–8.
24. Ott K., Vogelsang H., Mueller J. et al. Chromosomal instability rather than p53 mutation is associated with response to neoadjuvant cisplatin-based chemotherapy in gastric carcinoma // *Clin. Cancer Res.* – 2003; 9 (6): 2307–15.
25. Иванов В.И., Киселев Л.Л. Геномика в медицине / М.: Академкнига, 2005.
26. Kristensen M., Pedersen P., Melsen G. et al. Variants in the dihydropyrimidine dehydrogenase, methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase genes predict early toxicity of 5-fluorouracil in colorectal cancer patients // *J. Int. Med. Res.* – 2010; 38 (3): 870–83.
27. Ishida Y., Kawakami K., Tanaka Y. et al. Association of thymidylate synthase gene polymorphism with its mRNA and protein expression and with prognosis in gastric cancer // *Anticancer Res.* – 2002; 22: 2805–9.
28. Jackman A., Calvert A. Folate-based thymidylate synthase inhibitors as anticancer drugs // *Ann. Oncol.* – 1995; 6 (9): 871–81.
29. Zhang Q., Zhao Y., Liao Q. et al. Associations between gene polymorphisms of thymidylate synthase with its protein expression and chemosensitivity to 5-fluorouracil in pancreatic carcinoma cells // *Chin. Med. J. (Engl.)* – 2011; 124 (2): 262–7.
30. Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Э. и др. Геном человека и гены «предрасположенности». Введение в предиктивную медицину / СПб, 2000; 55 с.
31. Блохина Е.Б. Роль полиморфизма ферментов цикла фолиевой кислоты (MTHFR, TS) в развитии острого лимфобластного лейкоза // *Педиатрия.* – 2004; 12: 69–71.
32. Fariña-Sarasqueta A., Gosens M., Moerland E. et al. TS gene polymorphisms are not good markers of response to 5-FU therapy in stage III colon cancer patients // *Anal. Cell. Pathol. (Amst.)* – 2010; 33 (1): 1–11.
33. Ulrich C., Bigler J., Velicer C. et al. Searching expressed sequence tag databases: discovery and confirmation of a common polymorphism in the thymidylate synthase gene // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2000; 9: 1381–5.
34. Mandola M., Stoehlmacher J., Zhang W. et al. A 6 bp polymorphism in the thymidylate synthase gene causes message instability and is associated with decreased intratumoral TS mRNA levels // *Pharmacogenetics.* – 2004; 14: 319–27.
35. Xu Y., Yao L., Ouyang T. et al. P53 Codon 72 polymorphism predicts the pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer // *Clin. Cancer Res.* – 2005; 11: 7328–33.
36. Toyama T., Zhang Z., Nishio M. et al. Association of TP53 codon 72 polymorphism and the outcome of adjuvant therapy in breast cancer patients // *Breast Cancer Res.* – 2007; 9: R34.
37. Wu X., Zhao H., Amos C. et al. P53 genotypes and haplotypes associated with lung cancer susceptibility and ethnicity // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2002; 94: 681–90.
38. Sayhan N., Yazici H., Budak M. et al. P53 codon 72 genotypes in colon cancer. / Association with human papillomavirus infection // *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* – 2001; 109: 25–34.
39. Buyru N., Altinisik J., Demokan S. et al. P53 genotypes and haplotypes associated with risk of breast cancer // *Cancer Detect. Prev.* – 2007; 31: 207–13.
40. Lancaster J., Brownlee H., Wiseman R. et al. P53 polymorphism in ovarian and bladder cancer // *Lancet.* – 1995; 346: 182.

MOLECULAR GENETIC CHANGES AS A MARKER FOR THE EFFICIENCY OF TREATMENT FOR GASTRIC CANCER

Professor **A. Chernousov**¹, Academician of the Russian Academy of Sciences; Professor **M. Nemtsova**², Biol. Dr; Professor **T. Khorobrykh**¹, MD; **A. Udilova**¹, **D. Vychuzhanin**¹, Candidate of Medical Sciences, **R. Nurutdinov**¹, Candidate of Medical Sciences

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

²Research Center of Medical Genetics, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

The use of molecular genetic markers associated with the course and prognosis of the disease, a response to performed therapy, and the risk of side effects will assist in elaborating an individualized approach to treating patients with gastric cancer.

Key words: gastric cancer, molecular genetic markers, thymidyl synthase, TP53, allelic imbalance.