

DOI: 10.18027/2224-5057-2020-10-29-34

Цитирование: Спирина Л.В., Августинович А.В., Афанасьев С.Г., Волков М.Ю. Влияние неоадъювантной терапии на экспрессию молекулярных маркеров в ткани желудка. Злокачественные опухоли. 2020;10(1): 29–34

## ВЛИЯНИЕ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ТЕРАПИИ НА ЭКСПРЕССИЮ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ В ТКАНИ ЖЕЛУДКА

Л.В. Спирина<sup>1,2</sup>, А.В. Августинович<sup>1</sup>, С.Г. Афанасьев<sup>1</sup>, М.Ю. Волков<sup>1</sup>

1. Научно-исследовательский институт онкологии, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия

2. ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия

**Резюме:** Рак желудка (РЖ) остается одной из ведущих причин смерти от злокачественных новообразований. Известно, что его патогенез представляет собой многоступенчатый и гетерогенный процесс с широким спектром генетических изменений. Среди ведущих механизмов выделяют нарушение регуляции важнейших сигнальных путей клетки, что определяет нарушения клеточного цикла, дифференцировки клеток, процессов репарации ДНК, апоптоза и ведет к развитию злокачественной опухоли.

**Цель работы:** исследование экспрессии компонентов АКТ/m-TOR сигнального пути и AMPK в ткани опухоли у больных раком желудка на фоне химиотерапии по схеме FLOT.

**Материалы и методы.** В исследование было включено 24 больных раком желудка. Пациенты получали комбинированное лечение, включающее неоадъювантную химиотерапию по схеме FLOT, хирургическое вмешательство. Материалом исследования была нормальная и опухолевая ткань, полученная при проведении диагностической гастроскопии у пациентов. Уровень мРНК изучаемых показателей определялся методом ПЦР в реальном времени.

**Результаты и их обсуждение.** Значимые изменения происходили при исследовании уровня показателей после лечения. Отмечено, что на фоне неоадъювантной терапии происходит снижение экспрессии 4EBP1 в 2,2 раза по сравнению с его уровнем до начала лечения. При этом эффект лечения был связан с комплексом показателей, позволяющих предсказывать его еще до начала комбинированной терапии. Отмечено снижение экспрессии 4EBP1, mTOR и AMPK по мере уменьшения эффекта терапии в группах пациентов с полной регрессией, частичной регрессией, стабилизацией и прогрессированием заболевания.

**Заключение.** Снижение экспрессии 4EBP1 выявлено в ткани рака желудка под влиянием неоадъювантной терапии. Молекулярные маркеры, способные предсказывать развитие резистентности к противоопухолевой терапии, связаны с особенностями АКТ/mTOR сигнального пути. Изначально высокая экспрессия AMPK, mTOR и 4EBP1 является ключевым событием, опосредующим развитие эффекта неоадъювантной терапии при раке желудка.

**Ключевые слова:** рак желудка, молекулярные маркеры, неоадъювантная терапия

### ВВЕДЕНИЕ

Рак желудка (РЖ) остается одной из ведущих причин смерти от злокачественных новообразований. Известно, что его патогенез представляет собой многоступенчатый и гетерогенный процесс с широким спектром генетических изменений [1]. Среди ведущих механизмов выделяют дисрегуляцию важнейших сигнальных путей клетки, что определяет нарушения клеточного цикла, дифференцировки клеток, процессов репарации ДНК, апоптоза и ведет к развитию опухоли [2,3].

Белковый и энергетический обмен являются ключевыми механизмами, определяющими жизнеспособность клетки, в том числе и опухолевой, и связаны с 5' АМФ-ак-

тивируемой протеинкиназой (AMPK) и серин/треониновой протеинкиназой mTOR [3,4]. Выявлены неоднозначные данные о роли AMPK в онкогенезе. Известно, что активация данной протеинкиназы может сопровождаться развитием противоопухолевого эффекта [5]. Также имеются сведения, что AMPK связана с развитием резистентности к химиотерапевтическому лечению при РЖ [6]. Роль киназы mTOR в онкогенезе разнообразна. Она интегрирует различные сигнальные пути, в том числе АКТ/mTOR, которые активируются под влиянием ростовых факторов и митогенов [7].

Среди молекулярных механизмов развития РЖ сигнальный путь АКТ/mTOR занимает особое значение. Стоит отметить, что он представляет собой универсальный внутриклеточный каскад, влияющим на все процессы

## Оригинальные статьи. Собственные исследования

онкогенеза [2,8]. Показано, что в ткани опухоли желудка наблюдается увеличение экспрессии всех компонентов данного каскада, за исключением mTOR и AKT, уровни которых снижались на фоне роста фосфатазы PTEN [9].

В настоящее время имеются скудные сведения о маркерах, способных предсказывать эффект неоадьювантной терапии при РЖ. В частности, известно, что уровень экспрессии гена AKT может прогнозировать эффект химиотерапии при РЖ [10,11]. Полагают, что в этом участвует комплекс молекулярных показателей, например, компоненты AKT/mTOR сигнального каскада [12,13], формирующие чувствительность к лечению и непосредственно связанные с аутофагией [6].

Полагают, что изменение изучаемых молекулярных маркеров представляют собой наиболее универсальный подход для оценки эффективности терапии опухолей различного происхождения [13]. Известно, что эффект химиотерапии на основе 5-фторурацила и цисплатина связан с изменением экспрессионных профилей компонентов внутриклеточных сигнальных каскадов и маркеров аутофагии [8, 14]. В целом влияние неоадьювантной терапии на экспрессию компонентов AKT/m-TOR сигнального пути и AMPK не изучена.

## ЦЕЛЬ

Цель работы заключалась в исследовании экспрессии компонентов AKT/m-TOR сигнального пути и AMPK в ткани опухоли у больных РЖ на фоне химиотерапии по схеме FLOT.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 24 больных раком желудка, получавших 3 курса химиотерапии по схеме FLOT (доцетаксел-50 мг/м<sup>2</sup>, в/в, капельно 1 день, оксалиплатин 85 мг/м<sup>2</sup> 2-часовая в/в инфузия в 1-день, фолинат кальция (лейковорин) 200 мг/м<sup>2</sup> 2-часовая в/в инфузия в 1-й, 5-фторурацил 2400 мг/м<sup>2</sup> в/в 46–48-часовая инфузия в 1-й день. Оценка эффективности комбинированного лечения больных местнораспространённым РЖ проводилась по шкале RECIST. Полная регрессия отмечена у 3 пациентов, частичная регрессия опухоли была выявлена у 6 пациентов, стабилизация — у 11 и прогрессирование — у 4. Материалом исследования была нормальная и опухолевая ткань, полученная при проведении диагностической гастроскопии у пациентов после оперативного лечения; образцы после забора замораживались и хранились при t-800С.

Проведение данной работы одобрено этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ. Все процедуры с вовлечением больных были проведены в соответствии с Протоколом Хельсинской декларации по правам человека (1964 г.) Все больные подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

## ВЫДЕЛЕНИЕ РНК

РНК выделяли с помощью набора RNeasy mini Kit, содержащего ДНК-азу I (Qiagen, Germany). Для оценки количества выделенной РНК на спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, USA) оценивали концентрацию и чистоту выделенной РНК. Концентрация РНК составила от 80 до 250 нг/мкл, A260/A280 = 1,95–2,05; A260/A230 = 1,90–2,31. Целостность РНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе TapeStation (Agilent Technologies, USA) и набора R6K ScreenTape (Agilent Technologies, USA). RIN составил 5,6–7,8.

## КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ПЦР С ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИЕЙ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

Уровень экспрессии генов оценивали при помощи количественной обратной-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) с использованием красителя SYBR Green на амплификаторе iCycler (Bio-Rad, USA). Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора ОТ m-MuLV-RH (БиоЛабмикс, Россия) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией к набору. ПЦР ставили в трех репликах в объеме 25 мкл, содержащем 12,5 мкл БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (БиоЛабмикс, Россия), 300 нМ прямого и обратного праймеров и 50 нг кДНК.

*4E-BP1*: F 5'-CAGCCCTTTCTCCCTCACT-3',  
R 5'-TTCCCAAGCACATCAACCT-3';

*AKT1*: F 5'-CGAGGACGCCAAGGAGA-3',  
R 5'-GTCATCTTGGTCAGGTGGTGT-3';

*C-RAF*: F 5'-TGGTGTGCTCCTGCTCCCT-3',  
R 5'-ACTGCCTGCTACCTTACTTCCT-3';

*GSK3b*: F 5'-AGACAAGGACGGCAGCAA-3',  
R 5'-TGGAGTAGAAGAAATAACGCAAT-3';

*70S kinase alpha*: F 5'-CAGCACAGCAAATCCTCAGA-3',  
R 5'-ACACATCTCCCTCTCCACCTT-3';

*m-TOR*: F 5'-CCAAAGGCAACAAGCGAT-3',  
R 5'-TTCACCAAACCGTCTCCAA-3';

*PKD1*: F 5'-TCACCAGGACAGCCAATACA-3',  
R 5'-CTCCTCGGTCACTCATCTTCA-3';

*VHL*: F 5'-GGCAGGCGAATCTCTTGA-3',  
R 5'-CTATTTCTTTACTCAGCACCATT-3'

*AMPK*: F 5'-AAGATGTCCATTGGATGCACT-3',  
R 5'-TGAGGTGTTGAGGAACCAGAT-3';

*GAPDH*: F 5'-GGAAGTCAGGTGGAGCGA-3',  
R 5'-GCAACAATATCCACTTTACCAGA-3'.

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

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

Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета программ Statistica 8.0. Проверку нормальности проводили с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Результаты определения экспрессии генов представлены как Me (Q1; Q3). Значимость различий оценивали по критерию Манна–Уитни, при исследовании более 2 групп использовали непараметрический дисперсионный анализ (Kruskal–Wallis test, Median Test). Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ . Корреляционный анализ проводился с помощью непараметрического критерия Спирмена.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ранее проведенных исследованиях отмечены изменения экспрессии АКТ/mTOR сигнального каскада, связанные с распространенностью РЖ. Отмечено увеличение экспрессии всех компонентов данного каскада, за исключением mTOR и АКТ, которые снижались на фоне роста фосфатазы PTEN [9].

При исследовании уровня показателей после проведенной неоадъювантной терапии выявлено снижение экспрессии 4EBP1 в 2,2 раза в ткани опухоли.

Отмечены ассоциации между молекулярными параметрами в опухоли, характеризующие биологическое поведение опухоли. Так, выявлены многочисленные корреляции между киназой AMPK, PTEN ( $r = 0,39$ ;  $p < 0,05$ ), mTOR ( $r = 0,37$ ,  $p < 0,05$ ), 70S 6 киназой ( $r = 0,54$ ;  $p < 0,05$ ). При этом экспрессия киназы c-RAF имела ассоциацию с PDK ( $r = 0,50$ ;  $p < 0,05$ ), а 70S 6 киназа имела отрицательную ассоциацию с АКТ ( $r = -0,37$ ;  $p < 0,05$ ).

**Таблица 1. Влияние неоадъювантной терапии на экспрессию компонентов АКТ/mTOR сигнального пути и AMPK опухоли желудка**

Показатель, Усл. Ед.	До лечения	После лечения
PDK	1,54 (0,35; 6,89)	1,25 (0,06; 9,49)
АКТ	0,99 (0,21; 2,21)	1,95 (1,58; 76,00)
c-RAF	6,77 (1,27; 29,60)	15,07 (6,57; 120,76)
GSK-3 $\beta$	1,95 (0,30; 16,84)	1,12 (0,02; 2,29)
PTEN	2,13 (0,20; 9,78)	7,18 (0,00; 29,82)
mTOR	0,99 (0,19; 1,62)	4,74 (0,15; 6,83)
4EBP1	3,1 (0,45; 56,87)	1,41 (0,48; 15,62) *
70s 6 киназа	3,92 (0,54; 15,40)	8,02 (0,26; 32,66)
AMPK	1,45 (0,11; 7,95)	11,10 (0,07; 65,38)

Примечание: \* — значимость различий по сравнению с показателем до лечения,  $p < 0,05$ ;

При исследовании изучаемых показателей в зависимости от эффекта лечения отмечено изменение экспрессии 4EBP, mTOR, AMPK по мере уменьшения эффекта терапии в группах пациентов с полной регрессией, частичной регрессией, стабилизацией и прогрессирующим заболеванием (табл. 2). Наиболее высокий уровень мРНК показателей представлен у пациентов с полной регрессией.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования показано влияние неоадъювантной терапии на молекулярные маркеры при раке желудка. Известно, что уровень mTOR ассоциирован с экспрессией его субстратов — 70S 6 киназы и 4EBP1 и AMPK [4]. Так, снижение экспрессии гена 4EBP1 является отражением эффекта противоопухолевой терапии при изменении уровня мРНК гена mTOR. При этом существующие взаимодействия между молекулярными маркерами, вероятно, опосредуют биологические особенности опухоли, которые и определяют развитие инвазивного потенциала опухоли.

При проведении корреляционного анализа были выявлены ассоциации между изучаемыми молекулярными маркерами, свидетельствующие о влиянии AMPK на состояние основных компонентов изучаемого внутриклеточного каскада. Известно, что активация AMPK может сопровождаться фосфорилированием mTOR, p70S6K и 4E-BP1, способствуя снижению интенсивности основных процессов онкогенеза в культуре клеток РЖ [5]. Также выявлено, что развитие резистентности при РЖ связано с активацией AMPK и ингибированием компонентов АКТ/mTOR сигнального каскада [6,14].

В настоящее время имеются единичные неоднозначные сведения о связи молекулярных маркеров с эффектом неоадъювантной терапии. Полагают, что резистентность к лечению связана с развитием аутофагии, что происходит с участием основных компонентов внутриклеточных сигнальных каскадов [3]. В проведенном исследовании выявлено, что экспрессия 4EBP1, AMPK и mTOR связана с эффективностью проведенной химиотерапии. Показано, что изначально высокие уровни экспрессии 4EBP, mTOR, AMPK ассоциированы с регрессией опухоли и ее чувствительностью к неоадъювантной терапии. Вероятно, это объясняется их ролью в формировании биологического поведения опухоли, что подтверждается ранее представленными данными [5,6].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Неоадъювантная терапия при РЖ влияет на уровень экспрессии гена 4EBP1 в опухоли. Выявлены молекулярные маркеры, ассоциированные с эффектом лечения и развитием резистентности. Высокая экспрессия AMPK, mTOR и 4EBP1 в опухоли до начала лечения опосредует эффект при комбинированной терапии РЖ и связана с регрессией опухоли.

## Оригинальные статьи. Собственные исследования

**Таблица 2. Экспрессия компонентов АКТ/мTOR сигнального пути и АМПК в ткани опухоли желудка до лечения в зависимости от эффективности терапии**

Показатель, Усл. Ед.	Полная регрессия	Частичная регрессия	Стабилизация	Прогрессирование
PDK	0,07 (0,06; 0,09)	0,86 (0,01; 5,17)	3,15 (0,30; 7,11)	14,18 (1,64; 25,72)
	Kruskal-Wallis test: $p > 0,05$ ; Median Test: $p > 0,05$			
АКТ	0,10 (0,10; 0,15)	0,99 (0,61; 1,06)	0,89 (0,03; 38,59)	0,74 (0,07; 1,42)
	Kruskal-Wallis test: $p > 0,05$ ; Median Test: $p > 0,05$			
c-RAF	17,25 (15,5; 17,8)	6,77 (1,27; 32,20)	16,32 (0,05; 133,77)	2,70 (0,69; 4,72)
	Kruskal-Wallis test: $p > 0,05$ ; Median Test: $p > 0,05$			
GSK-3 $\beta$	18,20 (18,30; 18,6)	1,95 (0,14; 2,19)	10,54 (0,72; 36,43)	0,64 (0,16; 1,13)
PTEN	5,56 (5,57; 5,80)	8,28 (0,20; 8,52)	2,20 (0,04; 9,78)	22,57 (1,44; 43,71)
	Kruskal-Wallis test: $p > 0,05$ ; Median Test: $p > 0,05$			
mTOR	12,2 (12,30; 12,50)	0,99 (0,64; 5,70)	0,24 (0,19; 1,60)	0,75 (0,22; 1,28)
	Kruskal-Wallis test: $p < 0,05$ ; Median Test: $p < 0,05$			
4EBP1	400,00 (200,00; 450,00)	1,24 (0,42; 4,56)	1,88 (0,45; 56,89)	76,9 (0,52; 153,28)
	Kruskal-Wallis test: $p < 0,05$ ; Median Test: $p < 0,05$			
70s 6 киназа	6,90 (6,5; 6,8)	3,92 (0,54; 4,06)	3,54 (0,02; 15,40)	51,88 (43,41; 60,35)
	Kruskal-Wallis test: $p > 0,05$ ; Median Test: $p > 0,05$			
АМПК	11,45 (10,45; 14,50)	1,45 (0,11; 9,25)	1,30 (0,01; 4,06)	5,36 (2,77; 7,95)
	Kruskal-Wallis test: $p < 0,05$ ; Median Test: $p < 0,05$			

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Людмила В. Спирина**, д. м. н., старший научный сотрудник лаборатории биохимии опухолей «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики «Сибирский государственный медицинский университет», Томск, Россия, e-mail: spirinalvl@mail.ru

**Александра В. Августинович**, к. м. н., старший научный сотрудник отделения абдоминальной онкологии «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия, e-mail: aov862@yandex.ru

**Сергей Г. Афанасьев**, д. м. н., профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия, e-mail: afanasievsg@oncology.tomsk.ru

**Максим Ю. Волков**, к. м. н., врач отделения абдоминальной онкологии «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия, e-mail: dok75-75@mail.ru

DOI: 10.18027/2224-5057-2020-10-29-34

For citation: Spirina L. V., Avgustinovich A. V., Afanasiev S. G., Volkov M. Yu. Influence of neoadjuvant therapy on the expression of molecular markers in gastric cancer tissue. Malignant Tumours. 2020; 10(1): 29–34 (In Russ)

## INFLUENCE OF NEOADJUVANT THERAPY ON THE EXPRESSION OF MOLECULAR MARKERS IN GASTRIC CANCER

L. V. Spirina<sup>1,2</sup>, A. V. Avgustinovich<sup>1</sup>, S. G. Afanasiev<sup>1</sup>, M. Yu. Volkov<sup>1</sup>

1. Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia
2. Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

**Resume:** Introduction. Gastric cancer remains the leading cause of death from malignant neoplasms. Its pathogenesis is known to be a multistage and heterogeneous process with a wide range of genetic changes. Among the leading mechanisms, the dysregulation of the most important signaling cell pathways is distinguished, which determines the disruption of

the cell cycle, cell differentiation, DNA repair, and apoptosis processes and leads to the development of gastric cancer. This work aimed to study the expression of the AKT/mTOR and AMPK signaling pathway components after the FLOT chemotherapy in patients with gastric cancer.

**Material and methods.** The study includes 24 patients with gastric cancer. The patients received combined treatment, including neoadjuvant chemotherapy (FLOT) and surgical resection of the stomach. Specimen contained normal and tumor tissues obtained during diagnostic gastroscopy of patients. The mRNA level of the studied parameters was determined by real-time PCR.

**Results.** Significant changes occurred when examining the level of indicators after treatment. Against the background of non-adjuvant therapy, there was a decrease in 4EBP1 expression by 2.2 times compared to its level before surgery.

**The effect of the treatment was associated with a set of indicators.** They allow predicting the impact of therapy. There was a decrease in the expression of 4EBP, mTOR, and AMPK as the effect of treatment decreased in groups of patients with complete regression, partial regression, stabilization and progression of the disease.

**Conclusion.** A decrease in 4EBP1 expression was found in gastric cancer tissue under the influence of neoadjuvant therapy. Molecular markers that can predict the development of resistance to antitumor therapy are associated with the features of the AKT/mTOR signaling pathway. The initially high expression of AMPK, mTOR, and 4EBP1 is a key event mediating the development of the neoadjuvant therapy effect in gastric cancer.

**Keywords:** gastric cancer, molecular markers, neoadjuvant therapy.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

**Liudmila V. Spirina**, MD, PhD, DSc, Leader Researcher, Laboratory of Tumor Biochemistry, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Professor of the Department of Biochemistry and Molecular Biology with a Course in Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia, e-mail: spirinalvl@mail.ru

**Aleksandra V. Avgustinovich**, MD, PhD, Leader Researcher, Department of Abdominal Oncology, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia, e-mail: aov862@yandex.ru

**Sergey G. Afanasiev**, MD, PhD, DSc, Prof, Head of Department of Abdominal Oncology, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia, e-mail: afanasievsg@oncology.tomsk.ru

**M. Yu. Volkov**, MD, PhD, oncologist of Department of Abdominal Oncology, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia, e-mail: dok75-75@mail.ru

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCE

- Sohn BH, Hwang JE, Jang HJ, Lee H-S, Oh SC, Shim J-J, et al. Clinical Significance of Four Molecular Subtypes of Gastric Cancer Identified by The Cancer Genome Atlas Project. *Clin Cancer Res.* 2017 26;10.1158 / 1078-0432. CCR-16-2211. doi: 10.1158 / 1078-0432. CCR-16-2211.
- Ying J, Xu Q, Liu B, Zhang G, Chen L, Pan H. The expression of the PI3K / AKT / mTOR pathway in gastric cancer and its role in gastric cancer prognosis. *Onco Targets Ther.* 2015;8:2427-2433. Published 2015 Sep 1. doi:10.2147 / OTT.S88 592
- Spirina LV, Avgustinovich AV, Afanas'ev SG, Cheremisina OV, Volkov MY, Choynzonov EL, et al. Molecular Mechanism of Resistance to Chemotherapy in Gastric Cancers, the Role of Autophagy. *Curr Drug Targets.* 2020;21 (7):713-721. doi:10.2174 / 1 389 450 120 666 191 127 113 854
- Yu Y, Hou L, Song H, Xu P, Sun Y, Wu K. Akt / AMPK / mTOR pathway was involved in the autophagy induced by vitamin E succinate in human gastric cancer SGC-7901 cells. *Mol Cell Biochem.* 2017;424 (1-2):173-183. doi:10.1007 / s11 010-016-2853-4
- Luan M, Shi SS, Shi DB, Shi DB, Liu HT, Ma R. et al. TIPRL, a Novel Tumor Suppressor, Suppresses Cell Migration, and Invasion Through Regulating AMPK / mTOR Signaling Pathway in Gastric Cancer. *Front Oncol.* 2020;10:1062. Published 2020 Jul 3. doi:10.3389 / fonc. 2020.01 062
- Park JB, Lee JS, Lee MS, Cha EY, Kim S, Sul JY. Corosolic acid reduces 5 FU chemoresistance in human gastric cancer cells by activating AMPK. *Mol Med Rep.* 2018;18 (3):2880-2888. doi:10.3892 / mmr. 2018.9244
- Xiao F, Ouyang B, Zou J, Yang Y, Yi L, Yan H. Trim14 promotes autophagy and chemotherapy resistance of gastric cancer cells by regulating AMPK / mTOR pathway. *Drug Dev Res.* 2020;81 (5):544-550. doi:10.1002 / ddr. 21 650
- Qi W, Zhang Q. Gene's co-expression network and experimental validation of molecular markers associated with the drug resistance of gastric cancer *Biomark Med.* 2020;10.2217 / bmm-2019-0504. doi:10.2217 / bmm-2019-0504

## Оригинальные статьи. Собственные исследования

9. Спирина Л. В., Августинович А. В., Афанасьев С. Г., Кондакова И. В., Волков М. Ю., Добродеев А. Ю. и др. АКТ / mTOR сигнальный каскад и экспрессия PD-1, PD-L1, PD-L2 при раке желудка. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2020. Т. 170. № 7. С. 91–95. [Spirina L. V., Avgustinovich A. V., Afanas'ev S. G., Kondakova I. V., Volkov M. Yu., Dobrodeev A. Yu., et al. AKT / mTOR signaling cascade and PD-1, PD-L1, PD-L2 expression gastric cancers. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2020; 170 (7): 91–95. (Rus)]
10. Murakami D, Tsujitani S, Osaki T, Saito H, Katano K, Tatebe S, et al. Expression of phosphorylated Akt (pAkt) in gastric carcinoma predicts prognosis and efficacy of chemotherapy //Gastric Cancer. 2007;10 (1):45–51.
11. Tapia O, Riquelme I, Leal P, Sandoval S, Aedo S, Weber H, et al. The PI3K / AKT / mTOR pathway is activated in gastric cancer with potential prognostic and predictive significance. Virchows Arch. 2014 Jul;465 (1):25–33. doi: 10.1007 / s00 428-014-1588-4.
12. Sasaki T, Kuniyasu H. Significance of AKT in gastric cancer (Review). Int J Oncol. 2014 Dec;45 (6):2187–92. doi: 10.3892 / ijo. 2014.2678.
13. Spirina LV, Kondakova IV, Tarasenko NV, Slonimskaya EM, Usynin EA, Gorbunov AK, et al. Targeting of the AKT / m-TOR Pathway: Biomarkers of Resistance to Cancer Therapy-- AKT / m-TOR Pathway and Resistance to Cancer Therapy. Chinese Journal of Lung Cancer. 2018; 21. (1):63–66.
14. Peng R, Chen Y, Wei L, Li G, Feng D, Liu S, Jiang R, et al. Resistance to FGFR1-targeted therapy leads to autophagy via TAK1 / AMPK activation in gastric cancer Gastric Cancer. 2020;10.1007 / s10 120-020-01 088-y. doi:10.1007 / s10 120-020-01088-y