

DOI: 10.21294/1814-4861-2019-18-1-13-20

УДК: 616.24-006.6-08-036.8:615.28:575.113

Для цитирования: Цыганов М.М., Дерюшева И.В., Родионов Е.О., Ефтеев Л.А., Миллер С.В., Ибрагимова М.К., Перминова Е.Е., Черемисина О.В., Фролова И.Г., Тузиков С.А., Литвяков Н.В. Экспрессия мРНК генов химиочувствительности как предиктор ответа на неoadъювантную химиотерапию при немелкоклеточном раке легкого. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18 (1): 13–20. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-1-13-20.

For citation: Tsyganov M.M., Deryusheva I.V., Rodionov E.O., Efteev L.A., Miller S.V., Ibragimova M.K., Perminova E.E., Cheremisina O.V., Frolova I.G., Tuzikov S.A., Litviakov N.V. mRNA expression of chemosensitivity genes as a predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18 (1): 13–20 – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-1-13-20.

ЭКСПРЕССИЯ мРНК ГЕНОВ ХИМИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КАК ПРЕДИКТОР ОТВЕТА НА НЕОАДЪЮВАНТНУЮ ХИМИОТЕРАПИЮ ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО

М.М. Цыганов¹, И.В. Дерюшева¹, Е.О. Родионов¹, Л.А. Ефтеев¹,
С.В. Миллер¹, М.К. Ибрагимова¹, Е.Е. Перминова², О.В. Черемисина¹,
И.Г. Фролова¹, С.А. Тузиков¹, Н.В. Литвяков¹

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹

Россия, г. Томск, 634009, пер. Кооперативный, 5. E-mail: TsyganovMM@yandex.ru¹

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия²

Россия, г. Томск, 634050, Московский тракт, 2. E-mail: elenape11@mail.ru²

Аннотация

Частота объективного ответа на неoadъювантную химиотерапию (НХТ) при лечении больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) в среднем составляет 16 %. В этой связи актуальным является поиск новых предсказательных факторов и маркеров, которые позволили бы с высокой вероятностью не только прогнозировать эффект НХТ, но и адекватно выбирать схему лечения для конкретного пациента. **Цель исследования** – изучение связи уровня экспрессии генов химиочувствительности с эффективностью неoadъювантной химиотерапии у больных немелкоклеточным раком легкого. **Материал и методы.** В исследование были включены 30 больных НМРЛ IIА–IIIВ стадии. Из биопсийного материала нормальной и опухолевой тканей легкого до НХТ выделяли РНК. Уровень экспрессии генов химиочувствительности *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2a*, *TUBB3*, *TYMS*, *GSTP1* оценивали при помощи обратнo-транскриптазной количественной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR). **Результаты.** Анализ показателей экспрессии изучаемых генов позволил установить значимые различия в группах больных с разным эффектом НХТ. В 67 % случаев (10/15) отсутствие экспрессии *ERCC1* обуславливает наличие объективного ответа на лечение, по сравнению с группой, где присутствует экспрессия ($p < 0,05$). Наличие низкого (менее 0,2) и высокого (более 1,2) уровня экспрессии *BRCA1* сопряжено с низкими показателями эффективности НХТ, по сравнению с группой больных, у которых уровень эффективности находился в пределах нижней и верхней границы тертилей. Также статистически значимые различия были показаны для генов *GSTP1* и *RRM1*. **Заключение.** Таким образом, комплексная оценка экспрессии генов химиочувствительности важна не только с точки зрения понимания молекулярной биологии НМРЛ, но и для более точного определения эффекта НХТ и обнаружения потенциальных мишеней для лекарственных средств.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, неoadъювантная химиотерапия, эффективность химиотерапии, гены химиочувствительности, экспрессия генов.

mRNA EXPRESSION OF CHEMOSENSITIVITY GENES AS A PREDICTOR OF RESPONSE TO NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER

M.M. Tsyganov¹, I.V. Deryusheva¹, E.O. Rodionov¹, L.A. Efteev¹, S.V. Miller¹,
M.K. Ibragimova¹, E.E. Perminova², O.V. Cheremisina¹, I.G. Frolova¹,
S.A. Tuzikov¹, N.V. Litviakov¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹
5, Kooperativny Street, 634050-Tomsk, Russia. E-mail: TsyganovMM@yandex.ru¹
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²
2, Moskovsky trakt, 634050-Tomsk, Russia. E-mail: elenape11@mail.ru²

Abstract

The objective response rate to neoadjuvant chemotherapy (NAC) in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) is approximately 16 %. Therefore, the search for new predictive factors and markers that could precisely predict the NAC response and be relevant to the choice of the adequate treatment policy is of utmost importance. **The purpose of the study** was to analyze the relationship between the expression levels of chemosensitivity genes and NAC response in patients with non-small cell lung cancer. **Material and Methods.** The study included 30 patients with stage II/III NSCLC. Total RNA was isolated from normal and tumor lung tissue samples prior to NAC. The expression level of chemosensitivity genes, such as *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2a*, *TUBB3*, *TYMS*, and *GSTP1* was evaluated by real-time reverse transcriptase quantitative PCR (RT-qPCR). **Results.** A significant difference in the expression levels of the studied genes between patients with different NAC response was found. The objective response to therapy was observed in 67 % (10/15) of patients having no *ERCC1* expression compared to those with *ERCC1* expression ($p < 0.05$). Low (less than 0.2) and high (more than 1.2) *BRCA1* expression levels were associated with low rates of NAC response compared with patients whose expression level was between the lower and upper quartiles. Statistically significant differences were shown for the *GSTP1* and *RRM1* genes. **Conclusion.** A comprehensive assessment of the expression of chemosensitivity genes is important not only in terms of understanding heterogeneity and complexity of the molecular biology of NSCLC, but also for more accurate prediction of response to NAC and identification of potential drug targets.

Key words: non-small cell lung cancer, neoadjuvant chemotherapy, response to chemotherapy, chemosensitivity genes, gene expression.

Введение

В настоящее время установлено, что эффективность применяемой НХТ у больных немелкоклеточным раком легкого сильно варьирует [1–3]. В исследовании K. Pisters et al. [4] сообщается о 12 % больных, у которых достигнут полный ответ (9 из 73), J.A. Roth et al. [5] показали отсутствие эффективности НХТ у 28 пациентов, R. Rosell et al. [6] наблюдали положительный ответ на лечение у 3 % (1 из 30) больных НМРЛ. Показатель полного патологического ответа, описанный в данных исследованиях, составляет 4 % (диапазон – 0–16 %). Таким образом, частота объективного ответа на неoadъювантную химиотерапию при лечении пациентов с НМРЛ остается сравнительно невысокой.

Исходя из этого, основным трендом в современной онкологии является понимание молекулярно-биологических изменений в опухоли, поиск их ассоциаций с эффективностью лечения и прогнозом заболевания. Исследование экспрессии молекулярно-биологических маркеров может позволить выявить не только новые диагностические и прогностические факторы эффективности

лечения, но и более персонализированно подойти к назначению рациональных режимов комбинированной химиотерапии и таргетных препаратов [7, 8]. Особое внимание многих исследователей привлекает возможность оценки чувствительности опухоли к определенным химиопрепаратам. При немелкоклеточном раке легкого ключевыми генами химиочувствительности являются *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1* и др., которые определяют чувствительность опухолевых клеток к отдельным химиопрепаратам. В этой связи актуальным и перспективным является поиск новых предсказательных факторов, основанных на экспрессии генов химиочувствительности, поскольку их уровень патофизиологически связан с ответом на тот или иной препарат посредством участия в метаболизме лекарств в клетках опухоли, трансмембранном транспорте, взаимодействии с мишенью, а также в механизмах реализации апоптоза и репарации [9].

Цель исследования – изучение связи уровня экспрессии генов химиочувствительности с эффективностью неoadъювантной химиотерапии у больных немелкоклеточным раком легкого.

Материал и методы

В исследование включены 30 больных НМРЛ ПА–ШВ (Т1–4N0–3M0) стадии с морфологически верифицированным диагнозом (табл. 1), которые находились на лечении в клинике НИИ онкологии Томского НИМЦ. Выборка представлена пациентами мужского пола. Статус курения: положительный для всех. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией 1964 г. [10] (исправленной в 1975 г. и 1983 г.) и с разрешения локального этического комитета института, все пациенты подписали информированное согласие на исследование.

Всем пациентам проведено 2 курса неoadъювантной химиотерапии по схеме винорелбин 25 мг/м² (1-й и 8-й дни)/карбоплатин АУС 6 (во 2-й день) с интервалом 3 нед и последующей оценкой эффекта. Эффективность НХТ была оценена с помощью шкалы RECIST. Химиотерапия проводилась при удовлетворительном общем состоянии и лабораторных показателях пациентов без отклонений от нормы.

В качестве исследуемого материала был использован биопсийный материал нормальной и опухолевой ткани (~10 мм³) легкого, который помещали в раствор RNeasy Lysis Buffer (Qiagen, USA). После 24-часовой инкубации при +4 °С образцы биоматериала сохраняли при температуре –80 °С для дальнейшего выделения РНК.

РНК выделяли из 30 парных образцов нормальной ткани легкого и опухоли, с помощью набора RNeasy Plus mini Kit (Qiagen, Germany) в соответствии с инструкцией производителя. На спектро-

фотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, USA) оценивали концентрацию и чистоту выделения РНК. Концентрация РНК составила от 100 до 500 нг/мкл, $A_{260}/A_{280}=1,85-2,05$; $A_{260}/A_{230}=1,80-2,08$. Целостность РНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе Tape Station (Agilent Technologies, USA). RIN составил 6,6–9,2. Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора реагентов для синтеза первой цепи кДНК RevertAid™ RT (Thermo Fisher Scientific, USA) со случайными гексануклеотидами.

Уровень экспрессии генов: *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2a*, *TUBB3*, *TYMS*, *GSTP1* оценивали при помощи обратнo-транскриптазной количественной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) по технологии TaqMan на амплификаторе Rotor-Gene-6000 (Corbett Research, Australia). ПЦР ставился в трех репликах в объеме 15 мкл, содержащем 250 мкМ dNTPs (Sibenzyme, Россия), 300 нМ прямого и обратного праймеров, 200 нМ зонда, 2,5 мМ MgCl₂, 19 SE buffer (67 мМ Tris–HCl pH 8,8 при 25 °С, 16,6 мМ(NH₄)₂SO₄, 0,01 % Tween-20), 2,5 ед HotStart Taq polymerase (Sibenzyme, Россия) и 50 нг кДНК. Двухшаговая программа амплификации включала 1 цикл – 94 °С, 10 мин – предварительная денатурация; 40 цикла – 1 шаг 94 °С, 10 сек и 2 шаг 20 сек – при температуре 60 °С. Уровень экспрессии генов: *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2a*, *TUBB3*, *TYMS*, *GSTP1* оценивали при помощи обратнo-транскриптазной количественной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) по технологии TaqMan на амплифика-

Таблица 1

Характеристика клинического материала

| Клинико-морфологические параметры | | Количество больных (n=30) |
|--|---------------------|---------------------------|
| Возраст | ≤50 лет | 4 (13,3 %) |
| | >50 лет | 26 (86,7 %) |
| Размер опухоли | T1 | 3 (10 %) |
| | T2 | 5 (16,7 %) |
| | T3 | 17 (56,7 %) |
| | T4 | 5 (16,7 %) |
| | N0 | 5 (16,7 %) |
| Лимфогенное метастазирование | N1 | 15 (50,0 %) |
| | N2 | 9 (30,0 %) |
| | N3 | 1 (3,3 %) |
| Клинико-анатомическая форма рака легкого | Центральный | 20 (66,7 %) |
| | Периферический | 10 (33,3 %) |
| Гистологический тип | Плоскоклеточный рак | 24 (80,0 %) |
| | Аденокарцинома | 6 (20,0 %) |
| Эффект НХТ | Полная регрессия | 0 (0,0 %) |
| | Частичная регрессия | 12 (40,0 %) |
| | Стабилизация | 18 (60,0 %) |
| Объем операции | Прогрессирование | 0 (0,0 %) |
| | Пневмонэктомия | 12 (40,0 %) |
| | Лобэктомия | 18 (60,0 %) |

тоpe Rotor-Gene-6000 (Corbett Research, Australia). Праймеры и зонды (FAM-ВНQ1) были подобраны с использованием программы Vector NTI Advance 11.5 и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucscore>) (табл. 2). Синтез олигонуклеотидов и зондов осуществлялся в компании ДНК-синтез (Россия). Остальные манипуляции и методика оценки относительной экспрессии генов описаны ранее [11].

В качестве результата оценивался уровень экспрессии исследуемых генов относительно гена-рефери *GAPDH* и нормальной ткани легкого. Экспрессия была оценена с помощью метода Pfaffl и формула (1) использовалась для того, чтобы определить отношение экспрессии между образцом и калибратором:

$$\text{Ratio} = \frac{(E_{\text{target}})^{\Delta Ct, \text{target}(\text{calibrator} - \text{test})}}{(E_{\text{ref}})^{\Delta Ct, \text{ref}(\text{calibrator} - \text{test})}}, \quad (1)$$

где E – эффективность реакции; Ct – пороговый цикл генов мишеней (target) и гена-реферри (ref). $\Delta Ct, \text{target}(\text{calibrator} - \text{test}) = Ct$ гена мишени в

калибраторе минус Ct гена мишени в опытном образце; $\Delta Ct, \text{ref}(\text{calibrator} - \text{test}) = Ct$ гена-рефери в калибраторе минус Ct гена-рефери в опытном образце [12]. Уровень экспрессии измерялся в условных единицах.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 8.0» (StatSoft Inc., USA). Для каждой выборки вычисляли среднее арифметическое и среднюю квадратичную ошибку. Деление показателей уровня экспрессии изучаемых генов осуществлялось по тертилям при помощи базовой статистики. Для проверки гипотезы о значимости различий признака использовали критерий Вилкоксона – Манна – Уитни. Сравнение частот по качественным данным анализировали при помощи двухстороннего критерия Фишера (<http://vassarstats.net/odds2x2.html>).

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования мы изучили связь начального уровня экспрессии ис-

Таблица 2

Последовательность праймеров и проб исследованных генов

| Ген | Ампликон (bp) | Последовательность |
|--|---------------|---|
| <i>GAPDH</i> NM_002046.3 | 124 bp | F 5'-gccagccgagccacatc-3' |
| | | R 5'-ggcaacaatatccactttaccaga-3' |
| | | Probe 5'-cgccaatacaccacaaatccg-3' |
| <i>RRM1</i> NM_001033.3 | 94 bp | F 5'-actaagcaccctgactatgctatcc-3' |
| | | R 5'-cttccatcacatcactgaacacttt-3' |
| | | Probe 5'-cagccaggatcgctgtcttaactgca-3' |
| <i>ERCC1</i> XM_005258638.1 Все транскрипты | 121 bp | F 5'-ggcgacgtaattcccgacta-3' |
| | | R 5'-agttctccccagcctctgc-3' |
| | | Probe 5'-accacaacctgcaccagactacatcca-3' |
| <i>BRC1</i> NM_007294.3 NM_007297.3 NM_007298.3 NM_007299.3 NM_007300.3 | 107 bp | F 5'-acagctgtgtgctctctgtg-3' |
| | | R 5'-cattgtcctctgtccaggcatc-3' |
| | | Probe 5'-catcattcacccttggcacagggtg-3' |
| | | F 5'-ggcagtgatctaaggataatgaa -3' |
| | | R 5'- tggatatcttaagggtacagcga -3' |
| <i>TOP1</i> NM_003286.2 | 97 bp | Probe 5'-accatttcccacatccttctgtgagc-3' |
| | | F 5'-agtcgcttcagggttcttgag-3' |
| | | R 5'-tttcatttacaggctgcaatgg-3' |
| <i>TOP2A</i> NM_001067.3 | 75 bp | Probe 5'-cccttcagaccgtcaccatgga-3' |
| | | F 5'-ggccaagttctgggaagtc-3' |
| | | R 5'-cgagtcgccacgtagttg-3' |
| <i>TUBB3</i> NM_006086.3 | 71 bp | Probe 5'-atgagcatggcatcgacccagc-3' |
| | | F 5'-tctggaagggtgtttgga-3' |
| | | R 5'-tcccagatttccactccctt-3' |
| <i>TYMS</i> NM_001071.2 | 91 bp | Probe 5'-tctttagcatttggatcccttga-3' |
| | | F 5'-ctggggacatggtgaatgac-3' |
| | | R 5'-ctgcccgcctcatagttg-3' |
| <i>GSTP1</i> NM_000852.3 | 84 bp | Probe 5'-aggacctcctgcaaatcatctc-3' |

Примечания: все пробы – FAM →ВНQ1; NM – номер последовательности РНК в NCBI Nucleotide Database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucscore>); bp – base pair; F – прямой праймер; R – обратный праймер; Probe – зонд.

следуемых генов с эффектом неоадьювантной химиотерапии. Статистически значимые различия были установлены только для гена *TOP2a* ($p=0,03$). Начальный высокий уровень экспрессии данного гена ($3,87 \pm 1,50$) обуславливал эффект НХТ, расцененный как стабилизация, тогда как у пациентов с частичной и полной регрессией уровень экспрессии *TOP2a* был равен $1,05 \pm 0,77$. При этом важно отметить, что экспрессия мРНК является вариабельной величиной, таким образом, для более точного определения связи экспрессии генов химиочувствительности с эффектом НХТ при помощи статистического анализа пациенты были разделены на тертили (табл. 3).

Для *ERCC1* было установлено, что отсутствие экспрессии данного гена в опухоли легкого до начала проведения НХТ в 67 % случаев (10/15) обуславливает наличие объективного ответа на лечение, по сравнению с группой, где присутствует экспрессия (группа экспрессии от 0 до 0,4, $p=0,06$, и группа экспрессии более 0,4, при $p=0,02$). Полученный результат согласуется с данными литературы, высокая экспрессия генов репарации и, в частности, *ERCC1* определяет устойчивость опухоли легкого к препаратам платины [13]. В недавних исследованиях была показана корреляционная зависимость между экспрессией *ERCC1* и

реакцией на химиотерапию препаратами платины при раке желудка, печени, раке прямой и ободочной кишки и раке легкого [14]. D. Yan et al. показали, что при НМРЛ ингибирование экспрессии *ERCC1* связано с благоприятным прогнозом лечения [15]. Подобное исследование было проведено M. Tiseo et al., которые продемонстрировали, что у пациентов с низкой или нулевой экспрессией *ERCC1* в опухоли наблюдались высокая эффективность лечения НМРЛ цисплатином и высокая выживаемость [16].

Подобный результат был получен при анализе экспрессии гена *GSTP1*, который активно участвует в метаболизме препаратов платины, в частности карбоплатина, его экспрессия напрямую связана с клинической реакцией на химиотерапевтическое лечение [17]. Согласно нашим результатам, экспрессия *GSTP1* в опухоли выше 1,0 сопряжена с низкой эффективностью НХТ (80 % пациентов со стабилизацией; 8 случаев из 10), по сравнению с группой больных с низким уровнем экспрессии данного гена (менее 0,4), у которых в 83 % случаев наблюдается объективный ответ на лечение.

Далее нами было установлено, что наибольшая эффективность НХТ наблюдается в группе больных со средним значением (0,3–1,0) экспрессии гена *RRM1* (табл. 3). В 10 случаях из 12 (83 %)

Таблица 3

Ответ на неоадьювантную химиотерапию в зависимости от групп экспрессии генов химиочувствительности

| Ген | Группа экспрессии | n | Эффект НХТ | | p-value | | |
|--------------|-------------------|----|------------|----|------------|------------|------------|
| | | | ЧР + ПР | СТ | Группа 1/2 | Группа 1/3 | Группа 2/3 |
| <i>RRM1</i> | <0,3 | 5 | 2 | 3 | 0,53 | 0,55 | 0,04 |
| | 0,3–1,0 | 12 | 2 | 10 | | | |
| | >1 | 7 | 5 | 2 | | | |
| <i>TYMS</i> | <0,1 | 3 | 0 | 3 | 0,26 | 1,00 | 0,65 |
| | 0,1–1,2 | 16 | 7 | 9 | | | |
| | >1,2 | 7 | 2 | 5 | | | |
| <i>GSTP1</i> | <0,4 | 6 | 5 | 1 | 0,11 | 0,03 | 0,38 |
| | 0,4–1,0 | 12 | 5 | 7 | | | |
| | >1 | 10 | 2 | 8 | | | |
| <i>TUBB3</i> | <0,5 | 7 | 2 | 5 | 0,64 | 1,00 | 1,00 |
| | 0,5–3,8 | 15 | 7 | 8 | | | |
| | >3,8 | 7 | 3 | 4 | | | |
| <i>ERCC1</i> | 0 | 15 | 10 | 5 | 0,06 | 0,02 | 1,00 |
| | 0–0,4 | 7 | 1 | 6 | | | |
| | >0,4 | 8 | 1 | 7 | | | |
| <i>BRCA1</i> | <0,2 | 10 | 7 | 3 | 3e-4 | 1,00 | 4e-4 |
| | 0,2–1,2 | 14 | 0 | 14 | | | |
| | >1,2 | 6 | 5 | 1 | | | |
| <i>TOP1</i> | 0 | 7 | 4 | 3 | 0,16 | 0,61 | 0,60 |
| | 0–0,4 | 10 | 2 | 8 | | | |
| | >0,4 | 8 | 3 | 5 | | | |
| <i>TOP2a</i> | <0,01 | 7 | 5 | 2 | 0,07 | 0,10 | 1,00 |
| | 0,01–3,9 | 12 | 3 | 9 | | | |
| | >3,9 | 6 | 1 | 5 | | | |

Примечания: ЧР + ПР – частичная + полная регрессия опухолевого процесса; СТ – стабилизация опухолевого процесса.

показан хороший ответ на лечение, по сравнению с группой экспрессии более 1 ($p=0,04$). Следует отметить, что ферменты рибонуклеотидредуктазы (*RRM1/RRM2*) играют важную роль в ответе опухоли на действие таких химиопрепаратов, как 5-фторурацил и гемцитабин. Установлено, что высокая экспрессия *RRM1* ($p<0,05$) статистически значимо коррелирует с чувствительностью к гемцитабину и 5-фторурацилу [18]. G. Verpler et al. высказали предположение о том, что предварительная оценка экспрессии генов-маркеров *RRM1* и *ERCC1* может являться хорошим фактором выбора оптимальной схемы химиотерапии, а также влиять на отдаленные результаты лечения [19].

Интересный результат был получен для гена *BRCA1*, который участвует в репарации ДНК внутри клетки (PubMed; OМIM 113705), а также является показателем химиорезистентности к препаратам платины [20]. В нашем исследовании было показано, что наличие низкого (менее 0,2) и высокого (более 1,2) уровня экспрессии сопряжено с низкими показателями эффективности НХТ, по сравнению с группой больных, чей уровень находился в пределах нижней и верхней границы тертилей. При низкой экспрессии у 70 % (7/10) больных, а в группе пациентов с уровнем более 1,2 – у 83 % (5/6) наблюдалась стабилизация опухолевого процесса, тогда как группа больных с уровнем 0,2–1,2 в 100 % случаев отвечала на неoadъювантную химиотерапию ($p=3e-4$ и $p=4e-4$ соответственно, табл. 3). В исследовании M. Taron et al. было показано, что пациенты с низким уровнем экспрессии имели лучший результат лечения и более высокие показатели выживаемости, по сравнению с высокими уровнями *BRCA1* [20]. Полученный результат наших исследований можно объяснить тем, что при применении препаратов,

действующих на микротрубочки (в частности, винорелбина), вызывается индукция экспрессии гена *BRCA1*, что приводит к активации контрольной точки митоза и последующей клеточной гибели [21, 22]. При этом дефицит продукта гена *BRCA1*, наоборот, приводит к тому, что апоптоз опухолевых клеток под действием цитостатиков растительного происхождения не индуцируется.

Для других генов химиочувствительности статистически значимой связи с эффективностью НХТ установлено не было, кроме генов группы топоизомераз (*TOP1* и *TOP2a*) (на уровне выраженной тенденции).

Заключение

Персонализация химиотерапии остается актуальной проблемой в лечении немелкоклеточного рака легкого, решение которой может способствовать значительному повышению эффективности лечения. Большинство исследований сосредоточено на изучении связи экспрессии генов химиочувствительности с прогнозом заболевания. В настоящем исследовании была изучена экспрессия генов химиочувствительности в опухолевой ткани легкого до проведения неoadъювантной химиотерапии и оценена связь с эффективностью лечения. Анализ полученных результатов позволил установить значимые различия в эффективности лечения в группах больных с разным уровнем экспрессии *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1* и *GSTP1*. Представленное исследование продолжается.

Таким образом, комплексная оценка экспрессии генов химиочувствительности важна не только с точки зрения понимания молекулярной биологии НМРЛ, но и для более точного определения эффекта НХТ и обнаружения потенциальных мишеней для лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Felip E., Rosell R., Maestre J.A., Rodríguez-Paniagua J.M., Morán T., Astudillo J., Alonso G., Borro J.M., González-Larriba J.L., Torres A., Camps C., Gujjarro R., Isla D., Aguiló R., Alberola V., Padilla J., Sánchez-Palencia A., Sánchez J.J., Hermosilla E., Massuti B.; Spanish Lung Cancer Group. Preoperative chemotherapy plus surgery versus surgery plus adjuvant chemotherapy versus surgery alone in early-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2010 Jul 1; 28 (19): 3138–45. doi: 10.1200/JCO.2009.27.6204.
2. Pisters K.M., Vallieres E., Crowley J.J., Franklin W.A., Bunn Jr.P.A., Ginsberg R.J., Putnam Jr.J.B., Chansky K., Gandara D. Surgery with or without preoperative paclitaxel and carboplatin in early-stage non-small-cell lung cancer: Southwest Oncology Group Trial S9900, an intergroup, randomized, phase III trial. *J Clin Oncol.* 2010 Apr 10; 28 (11): 1843–9. doi: 10.1200/JCO.2009.26.1685.
3. Scagliotti G.V., Pastorino U., Vansteenkiste J.F., Spaggiari L., Facciolo F., Orlovski T.M., Maiorino L., Hetzel M., Leschinger M., Visseren-Grul C., Torri V. Randomized phase III study of surgery alone or surgery plus preoperative cisplatin and gemcitabine in stages IB to IIIA non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2012 Jan 10; 30 (2): 172–8. doi: 10.1200/JCO.2010.33.7089.
4. Pisters K., Kris M.G., Gralla R.J., Zaman M.B., Heelan R.T., Martini N. Pathologic complete response in advanced non-small-cell lung cancer following preoperative chemotherapy: implications for the design of future non-small-cell lung cancer combined modality trials. *J Clin Oncol.* 1993 Sep; 11 (9): 1757–62.

5. Roth J.A., Fossella F., Komaki R., Ryan M.B., Putnam J.B. Jr., Lee J.S., Dhingra H., De Caro L., Chasen M., Mc Gavran M. A randomized trial comparing perioperative chemotherapy and surgery with surgery alone in resectable stage IIIA non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1994 May 4; 86 (9): 673–80.
6. Rosell R., Gomez-Codina J., Camps C., Maestre J., Padilla J., Canto A., Mate J.L., Li S., Roig J., Olazabal A. A randomized trial comparing preoperative chemotherapy plus surgery with surgery alone in patients with non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 1994 Jan 20; 330 (3): 153–8.
7. O'Byrne K.J., Gatzemeier U., Bondarenko I., Barrios C., Eschbach C., Martens U.M., Hoiko Y., Kortsik C., Paz-Ares L., Pereira J.R., von Pawel J., Ramlau R., Roh J.K., Yu C.T., Stroh C., Celik I., Schueler A., Pirker R. Molecular biomarkers in non-small-cell lung cancer: a retrospective analysis of data from the phase 3 FLEX study. *Lancet Oncol.* 2011 Aug; 12 (8): 795–805. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70189-9.
8. Гервас П.А., Литвяков Н.В., Попова Н.О., Добродеев А.Ю., Тарасова А.С., Юмов Е.Л., Иванова Ф.Г., Черемисина О.В., Афанасьев С.Г., Гольдберг В.Е., Чердынцева Н.В. Проблемы и перспективы совершенствования молекулярно-генетической диагностики для назначения таргетных препаратов в онкологии. *Сибирский онкологический журнал.* 2014; 2: 46–55. [Gervas P.A., Litviakov N.V., Popova N.O., Dobrodeev A.Yu., Tarasova A.S., Yumov E.L., Ivanova F.G., Cheremisina O.V., Afanasyev S.G., Goldberg V.E., Cherdyntseva N.V. Problem and perspective to improve molecular testing to choose appropriate target therapy. *Siberian Journal of Oncology.* 2014; 2: 46–55. (in Russian)].

9. Цыганов М.М., Родионов Е.О., Миллер С.В., Литвяков Н.В. Обоснование использования экспрессионных маркеров для персонализации химиотерапии рака лёгкого. Антибиотики и химиотерапия. 2015; 60 (9–10): 38–45. [Tsyganov M.M., Rodionov E.O., Miller S.V., Litvyakov N.V. Substantiation of expressive markers use to personalize lung cancer chemotherapy. Antibiotics and Chemotherapy. 2015; 60 (9–10): 38–45. (in Russian)].
10. Schwartz G.F., Hortobagyi G.N. Proceedings of the consensus conference on neoadjuvant chemotherapy in carcinoma of the breast. April 26–28, 2003, Philadelphia, Pennsylvania. Cancer. 2004 Jun 15; 100 (12): 2512–32.
11. Юмов Е.Л., Цыганов М.М., Миллер С.В., Литвяков Н.В., Полищук Т.В., Миллер С.В., Родионов Е.О., Тузиков С.А. Экспрессия генов множественной лекарственной устойчивости и монорезистентности при немелкоклеточном раке легкого. Сибирский онкологический журнал. 2013; 1: 16–22. [Yumov E.L., Tsyganov M.M., Miller S.V., Litvyakov N.V., Polishchuk T.V., Miller S.V., Rodionov E.O., Tuzikov S.A. Expression of multidrug resistance and monoresistance genes in non-small cell lung cancer. Siberian Journal of Oncology. 2013; 1: 16–22. (in Russian)].
12. Pfaffl M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Res. 2001 May 1; 29 (9): e45.
13. Simon G.R., Schell M.J., Begum M., Kim J., Chiappori A., Haura E., Antonia S., Bepler G. Preliminary indication of survival benefit from ERCC1 and RRM1-tailored chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer: Evidence from an individual patient analysis. Cancer. 2012 May 1; 118 (9): 2525–31. doi: 10.1002/cncr.26522.
14. De Dosso S., Zanellato E., Nucifora M., Boldorini R., Sonzogni A., Biffi R., Fazio N., Bucci E., Beretta O., Crippa S. ERCC1 predicts outcome in patients with gastric cancer treated with adjuvant cisplatin-based chemotherapy. Cancer Chemother Pharmacol. 2013 Jul; 72 (1): 159–65. doi: 10.1007/s00280-013-2181-2.
15. Yan D., Wei P., An G., Chen W. Prognostic potential of ERCC1 protein expression and clinicopathologic factors in stage III/N2 non-small cell lung cancer. J Cardiothorac Surg. 2013 Jun 10; 8: 149. doi: 10.1186/1749-8090-8-149.
16. Tiseo M., Bardi P., Bortesi B., Boni L., Boni C., Baldini E., Grossi F., Recchia F., Zanelli F., Fontanini G., Naldi N., Campanini N., Azzoni C., Bardi C., Ardzizoni A.; Bio-FAST trial group. ERCC1/BRCA1 expression and gene polymorphisms as prognostic and predictive factors in advanced NSCLC treated with or without cisplatin. Br J Cancer. 2013 Apr 30; 108 (8): 1695–703. doi: 10.1038/bjc.2013.127.
17. Zhou F., Yu Z., Jiang T., Lv H., Yao R., Liang J. Genetic polymorphisms of GSTP1 and XRCC1: prediction of clinical outcome of platinum-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. Swiss Med Wkly. 2011 Oct 19; 141: w13275. doi: 10.4414/smww.2011.13275.
18. Yu Y., Ding S., Liang Y., Zheng Y., Li W., Yang L., Zheng X., Jiang J. Expression of ERCC1, TYMS, TUBB3, RRM1 and TOP2A in patients with esophageal squamous cell carcinoma: A hierarchical clustering analysis. Exp Ther Med. 2014 Jun; 7 (6): 1578–1582. doi: 10.3892/etm.2014.1659.
19. Bepler G., Williams C., Schell M.J., Chen W., Zheng Z., Simon G., Gadgeel S., Zhao X., Schreiber F., Brahmer J., Chiappori A., Tamvetyanov T., Pinder-Schenck M., Gray J., Haura E., Antonia S., Fischer J.R. Randomized international phase III trial of ERCC1 and RRM1 expression-based chemotherapy versus gemcitabine/carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol. 2013 Jul 1; 31 (19): 2404–12. doi: 10.1200/JCO.2012.46.9783.
20. Taron M., Rosell R., Felip E., Mendez P., Souglakos J., Ronco M.S., Queralt C., Majo J., Sanchez J.M., Sanchez J.J., Maestre J. BRCA1 mRNA expression levels as an indicator of chemoresistance in lung cancer. Hum Mol Genet. 2004 Oct 15; 13 (20): 2443–9. doi: 10.1093/hmg/ddh260.
21. Mullan P.B., Quinn J.E., Gilmore P.M., McWilliams S., Andrews H., Gervin C., McCabe N., McKenna S., White P., Young-Han S. BRCA1 and GADD45 mediated G2/M cell cycle arrest in response to antimicrotubule agents. Oncogene. 2001 Sep 27; 20 (43): 6123–31. doi: 10.1038/sj.onc.1204712.
22. Quinn J.E., Kennedy R.D., Mullan P.B., Gilmore P.M., Carty M., Johnston P.G., Harkin D.P. BRCA1 functions as a differential modulator of chemotherapy-induced apoptosis. Cancer Res. 2003; 63 (19): 6221–6228.

Поступила/Received 24.01.18
Принята в печать/Accepted 03.04.18

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Цыганов Матвей Михайлович, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: TsyganovMM@yandex.ru. SPIN-код: 1253-0240. Researcher ID (WOS): A-7212-2014. Author ID (Scopus): 55366377400. ORCID: 0000-0001-7419-4512.

Дерюшева Ирина Валерьевна, младший научный сотрудник лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: Irkin_097@mail.ru. SPIN-код: 5560-6131. Researcher ID (WOS): Q-5607-2017. Author ID (Scopus): 57194535404. ORCID: 0000-0002-9568-3371.

Родионов Евгений Олегович, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник торакального отделения, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: scorpion1612@list.ru. SPIN-код: 7650-2129. Researcher ID (WOS): B-7280-2017. Author ID (Scopus): 57189622130. ORCID: 0000-0003-4980-8986.

Ефтеев Леонид Александрович, младший научный сотрудник торакального отделения, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: efteyc@rambler.ru. ORCID: 0000-0002-9054-0742.

Миллер Сергей Викторович, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник торакального отделения, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: miller_sv@sibmail.com. SPIN-код: 6510-9849. Researcher ID (WOS): C-8970-2012. Author ID (Scopus): 56525429400. ORCID: 0000-0002-5365-9840.

Ибрагимова Марина Константиновна, младший научный сотрудник лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: imk1805@yandex.ru. SPIN-код: 2340-1628. Researcher ID (WOS): C-8609-2012. Author ID (Scopus): 57130579200. ORCID: 0000-0001-8815-2786.

Перминова Елена Евгеньевна, студентка, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Россия). E-mail: elenape11@mail.ru.

Черемисина Ольга Владимировна, доктор медицинских наук, заведующая эндоскопическим отделением, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: CheremisinaOV@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 9579-2691. AuthorID (РИНЦ): 562287. ResearcherID (WOS): C-9259-2012. Author ID (Scopus): 6602197938. ORCID: 0000-0001-7234-4708.

Фролова Ирина Георгиевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением лучевой диагностики, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: frolovaIG@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 9800-9777. Researcher ID (WOS): C-8212-2012. Author ID (Scopus): 7006413170. ORCID: 0000-0001-5227-006X.

Тузиков Сергей Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий торакальным отделением, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: tuzikovSA@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 5662-6431. Researcher ID (WOS): D-1176-2012. Author ID (Scopus): 6507842873. ORCID: 0000-0002-0884-1838.

Литвяков Николай Васильевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: nvlitv72@yandex.ru. SPIN-код: 2546-0181. Researcher ID (WOS): C-3263-2012. Author ID (Scopus): 6506850698. ORCID: 0000-0002-0714-8927.

Финансирование

Исследования выполнены при поддержке программы «Участники молодежного научно-инновационного конкурса (УМНИК)» Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере. Договор (Соглашение) №11783 ГУ/2017 от 3 июля 2017 г. Тема: «Разработка способа предсказания эффективности послеоперационной химиотерапии у больных раком легкого».

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Matvey M. Tsyganov, PhD, Researcher, Laboratory of Viral Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: TsyganovMM@yandex.ru. Researcher ID (WOS): A-7212-2014. Author ID (Scopus): 55366377400. ORCID: 0000-0001-7419-4512.

Irina V. Deryusheva, Junior Researcher, Laboratory of Viral Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: Irkin_097@mail.ru. Researcher ID (WOS): Q-5607-2017. Author ID (Scopus): 57194535404. ORCID: 0000-0002-9568-3371.

Evgeny O. Rodionov, MD, PhD, Junior Researcher, Thoracic Surgery Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: scorpion1612@list.ru. Researcher ID (WOS): B-7280-2017. Author ID (Scopus): 57189622130. ORCID: 0000-0003-4980-8986.

Leonid A. Efteev, MD, Junior Researcher, Thoracic Surgery Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: efteyco@rambler.ru. ORCID: 0000-0002-9054-0742.

Sergey V. Miller, MD, DSc, Leading Researcher, Thoracic Surgery Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: miller_sv@sibmail.com. Researcher ID (WOS): C-8970-2012. Author ID (Scopus): 56525429400. ORCID: 0000-0002-5365-9840.

Marina K. Ibragimova, Junior Researcher, Laboratory of Viral Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: imk1805@yandex.ru. Researcher ID (WOS): C-8609-2012. Author ID (Scopus): 57130579200. ORCID: 0000-0001-8815-2786.

Elena E. Perminova, student, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). E-mail: elenape11@mail.ru.

Olga V. Cheremisina, MD, DSc, Head of the Department of Endoscopy, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: CheremisinaOV@oncology.tomsk.ru. Researcher ID (WOS): C-9259-2012. Author ID (Scopus): 6602197938. ORCID: 0000-0001-7234-4708.

Irina G. Frolova, MD, DSc, Professor, Head of the Diagnostic Imaging Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: frolovaIG@oncology.tomsk.ru. Researcher ID (WOS): C-8212-2012. Author ID (Scopus): 7006413170. ORCID: 0000-0001-5227-006X.

Sergey A. Tuzikov, MD, DSc, Professor, Head of the Thoracic Surgery Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: tuzikovSA@oncology.tomsk.ru. Researcher ID (WOS): D-1176-2012. Author ID (Scopus): 6507842873. ORCID: 0000-0002-0884-1838.

Nikolay V. Litviakov, DSc, Head of the Laboratory of Viral Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: nvlitv72@yandex.ru. Researcher ID (WOS): C-3263-2012. Author ID (Scopus): 6506850698. ORCID: 0000-0002-0714-8927.

Funding

The research was carried out with the support of the program «Participants of the Youth Scientific and Innovation Contest (UMNIK) of the Foundation for the Promotion of Small Forms of Enterprises in the Scientific and Technical Sphere. Agreement (Agreement) No. 11783 GU / 2017 of July 3, 2017. Theme: «Development of a method for predicting the efficacy of postoperative chemotherapy in patients with lung cancer».

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.