

М.М. Цыганов<sup>1,2</sup>, Е.О. Родионов<sup>1</sup>, И.В. Дерюшева<sup>1</sup>, С.В. Миллер<sup>1</sup>, М.К. Ибрагимова<sup>1,2</sup>,  
Л.Ф. Писарева<sup>1</sup>, Ю.Г. Кжышниковская<sup>2,3</sup>, С.А. Тузиков<sup>1</sup>, Н.В. Чердынцева<sup>1,2</sup>,  
Н.В. Литвяков<sup>1,2\*</sup>

## Оценка прогностической значимости экспрессии генов монорезистентности в опухоли больных немелкоклеточным раком легкого после предоперационной химиотерапии

<sup>1</sup>НИИ онкологии, Томский НИМЦ, Томск;

<sup>2</sup>Томский государственный университет, Томск;

<sup>3</sup>Институт Трансфузионной Медицины и Иммунологии, Медицинский факультет Мангейм, Университет Гейдельберга, Германия

Существенная роль в формировании устойчивости опухоли легкого к лекарственной терапии принадлежит генам монорезистентности, которые определяют резистентность/чувствительность опухолевых клеток к отдельным химиопрепаратам, таким как *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2a*, *TUBB3*, *TYMS*, *ABCC5*. Показано, что использование данных биомаркеров в качестве критерия назначения послеоперационной химиотерапии сопряжено с прогнозом. В процессе неoadьювантного лечения может происходить смена экспрессионного профиля указанных генов, что может привести к неправильной интерпретации результатов. В этой связи актуальным является разработка новых прогностических факторов, которые учитывали бы молекулярно-генетические изменения в опухоли легкого после предоперационной терапии. В работе представлены результаты комбинированного лечения 52 больных немелкоклеточным раком легкого II – IIIВ стадии с учетом анализа экспрессии генов резистентности/чувствительности к химиопрепаратам. Установлено, что отсутствие экспрессии гена *ERCC1* в операционном материале опухоли легкого сопряжено с высокими показателями безрецидивной выживаемости ( $p=0,00913$ ). Низкий уровень экспрессии *RRM1* (менее 0,5) также сопряжен с высокими показателями выживаемости ( $p=0,01808$ ), тогда как высокий уровень является маркером плохого прогноза. Установлено, что сочетание повышенной экспрессии (более 0,5) любых двух или всех генов группы *RRM1*, *ABCC5*, *TYMS*, является прогностическим фактором низкой безрецидивной выживаемости. Мы показали, что экспрессия *ERCC1* является независимым от экспрессии других генов прогностическим фактором. При нулевом уровне *ERCC1* в опухоли легкого независимо от высокого или низкого уровня генов

*RRM1*, *ABCC5* и *TYMS* отмечается высокая безрецидивная выживаемость. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о прогностической значимости экспрессии генов монорезистентности *ERCC1*, *TUBB3*, *RRM1*, *ABCC5* и *TYMS* в опухоли легкого после неoadьювантной химиотерапии.

**Ключевые слова:** немелкоклеточный рак легкого, неoadьювантная химиотерапия, гены монорезистентности, безрецидивная выживаемость, прогноз

### Введение

В настоящее время результаты хирургического лечения больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) II-III стадии остаются неудовлетворительными, а 5-летняя выживаемость составляет лишь 19–24% [1, 6]. На сегодняшний день системная и, в частности, неoadьювантная химиотерапия (НХТ) все чаще применяется для лечения больных раком легкого. В недавних клинических исследованиях было установлено, что назначение НХТ в дополнение к хирургическому лечению позволяет значительно улучшить показатели общей и безрецидивной выживаемости пациентов, включая пациентов с III стадией [4, 16]. Существенная роль в формировании резистентности/чувствительности опухолевых клеток к отдельным химиопрепаратам принадлежит генам монорезистентности. В настоящее время, в этом отношении, при раке легкого охарактеризованы такие гены, как *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2a*, *TUBB3*, *TYMS*, *ABCC5* [15, 19]. Данные биомаркеры важны для использования в персонализации терапии при НМРЛ [2].

Важно отметить, что при лечении НМРЛ с использованием НХТ начальный уровень экспрессии данных генов в опухоли легкого, как и многие другие факторы прогноза, слабо или вообще не сопряжены с показателями выживаемости [5, 11, 17, 18]. Это можно объяснить про-

ведением предоперационной химиотерапии, под влиянием которой происходят существенные молекулярно-генетические изменения первичной опухоли и лимфогенных метастазов, в том числе и смена экспрессионного портрета генов монорезистентности в опухолевых клетках, что необходимо учитывать при назначении адъювантной химиотерапии (АХТ) и при прогнозе исхода заболевания. J.N. Jakobsen в 2012 году было показано, что неoadъювантное лечение вызывает повреждения ДНК в опухолевых клетках, и, таким образом, экспрессия биомаркеров в опухоли после предоперационной терапии больных раком легкого значительно отличается от таковой, детектированной в опухоли до лечения. Авторы работы продемонстрировали, что НХТ вызывает изменение мутационного спектра в гене *EGFR*, и как следствие, неправильную интерпретацию статуса данного маркера [8]. Более поздние исследования этих же авторов показали, что в процессе НХТ происходят изменения статуса Ki-67 в 83% случаев [9].

В этой связи актуальным является разработка новых прогностических факторов, которые учитывали бы произошедшие изменения в опухоли легкого при проведении НХТ. Перспективными в этом отношении маркерами представляются гены монорезистентности, поскольку их экспрессия патофизиологически связана с ответом на тот или иной препарат посредством участия в метаболизме препаратов в клетках опухоли, трансмембранном транспорте, взаимодействии с мишенью, механизмах реализации апоптоза и репарации [2]. Целью работы явилась оценка прогностической значимости уровня экспрессии генов монорезистентности у больных немелкоклеточным раком легкого после неoadъювантной химиотерапии.

### Материал и методы

В исследование включены 52 больных НМРЛ IА – IIIВ стадии, центральной или периферической локализации с морфологически верифицированным диагнозом, которые находились на лечении в клинике НИИ онкологии Томского НИМЦ. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской Декларацией 1964 г. (исправленной в 1975 и 1983 гг.) 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/м<sup>2</sup> (1-й и 8-й дни) / карбоплатин АУС 6 (во 2-й день) с интервалом 3 недели и последующей оценкой эффекта. После НХТ пациентам проводилась операция в объеме пневмонэктомии или лобэктомии. После хирургического вмешательства больным проведено 3 курса адъювантной химиотерапии по схеме: винорелбин 25 мг/м<sup>2</sup> в/в в 1-й и 8-й дни, карбоплатин по АУС 6 в/в во 2-й день. Интервал между курсами химиотерапии составил 3 недели. Химиотерапия проводилась при удовлетворительном общем состоянии и лабораторных показателях пациентов

без отклонений от нормы. Основные клиничко-морфологические параметры включенных в исследование пациентов представлены в табл. 1.

**Таблица 1. Основные клиничко-морфологические параметры обследованных пациентов**

Клиничко-патологический параметр	Количество больных (n=52)	
Возраст	≤50 лет	8 (15,4%)
	>50 лет	44 (84,6%)
Размер опухоли	T <sub>1</sub>	3 (5,8%)
	T <sub>2</sub>	7 (13,5%)
	T <sub>3</sub>	35 (67,3%)
	T <sub>4</sub>	7 (13,5%)
Лимфогенное метастазирование	N <sub>0</sub>	13 (25,0%)
	N <sub>1</sub>	24 (46,2%)
	N <sub>2</sub>	14 (26,9%)
	N <sub>3</sub>	1 (1,9%)
Клиничко-анатомическая форма	Центральный	31 (59,6%)
	Периферический	21 (40,4%)
Гистологический тип	Плоскоклеточный	39 (75,0%)
	Аденокарцинома	13 (25,0%)
Эффект НХТ	Полная регрессия	1 (1,9%)
	Частичная регрессия	16 (30,8%)
	Стабилизация	34 (65,4%)
	Прогрессирование	0 (0,0%)
Характер операции	Пневмонэктомия	19 (36,5%)
	Лобэктомия	33 (63,5%)

В качестве исследуемого материала был использован операционный материал нормальной и опухолевой ткани (~60–70 мм<sup>3</sup>) легкого после НХТ, который помещали в раствор RNeasy Lysis Buffer (Qiagen, USA). После 24-часовой инкубации при +4°C образцы биоматериала сохраняли при температуре –80°C для дальнейшего выделения РНК.

#### Выделение РНК

РНК выделяли из 52 парных образцов нормальной ткани легкого и опухоли, полученных при оперативном вмешательстве после НХТ, с помощью набора RNeasy Plus mini Kit (Qiagen, Germany) в соответствии с инструкцией производителя. На спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, USA) оценивали концентрацию и чистоту выделения РНК. Концентрация РНК составила от 100 до 500 нг/мкл,  $A_{260}/A_{280} = 1,95-2,05$ ;  $A_{260}/A_{230} = 1,90-2,31$ . Целостность РНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе Tape Station (Agilent Technologies, USA) и набора R6K Screen Tape (Agilent Technologies, USA). RIN составил 5,6 – 9,0.

#### Количественная ПЦР в режиме реального времени

Уровень экспрессии генов монорезистентности RRM1 (ribonucleotide reductase catalytic subunit M1), ERCC1 (excision repair 1, endonuclease non-catalytic subunit), TOP1 (topoisomerase (DNA) I), TOP2a (topoisomerase (DNA) II alpha), TYMS (thymidylate synthetase), ABCC5 (ATP binding cassette subfamily C member 5), TUBβ3 (tubulin, beta 3 class III), BRCA1 (breast cancer 1, DNA repair associated), GSTP1 (glutathione S-transferase pi 1) оценивали при помощи количественной ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени (RT-qPCR) по технологии TaqMan на амплификаторе RotorGene-6000 (Corbett Research, Australia)

[12]. Праймеры и зонды (FAM-BHQ1) были подобраны с использованием программы VectorNTI Advance 11.5 и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore>) [3]. В качестве гена-рефери использовали ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH (glyceraldehydes-3-phosphatedehydrogenase) и уровень экспрессии каждого целевого гена нормализовали по отношению к экспрессии GAPDH и нормально ткани. Относительная экспрессия генов была оценена с помощью метода Pfaffl и выражалась в условных единицах [13].

*Статистическая обработка результатов*

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 8.0» (StatSoft Inc., США). Для каждой выборки вычисляли среднее арифметическое и среднюю квадратичную ошибку. Для проверки гипотезы о значимости различий между исследуемыми группами использовали критерий Вилкоксона-Манна-Уитни. Для анализа безрецидивной выживаемости использовались кривые выживаемости, построенные по методу Каплана-Майера [10].

**Результаты и обсуждение**

На первом этапе была изучена связь экспрессии генов монорезистентности с основными клинико-морфологическими параметрами (табл. 2). Экспрессия исследуемых генов слабо коррелировала с представленными параметрами. Только в группе с размером опухоли T<sub>3-4</sub> уровень экспрессии генов ERCC1 и TOP2A был ниже, чем в группе T<sub>1-2</sub> (p=0,0386 и p=0,0084, соответственно).

В общей группе из 52 обследованных пациентов отдаленные метастазы и рецидивы развились у 16 (31%) больных в сроки 2–34 месяца от момента постановки диагноза. Однолетняя безрецидивная выживаемость составила 74,4%, 2-летняя – 60,6%, 3-летняя – 48%. В группе пациентов с наличием гематогенных метастазов и

**Таблица 2. Уровень экспрессии генов монорезистентности в опухоли легкого после НХТ в зависимости от основных клинико-морфологических параметров**

Клинико-морфологические параметры		RRM1	ERCC1	ABCC5	GSTP1	TOP1	TOP2A	TYMS	TUBB3	BRCA
Возраст	≤50	0,48±0,11	0,19±0,60	1,50±0,60	0,40±0,16	0,91±0,75	4,55±2,64	1,02±0,57	2,20±1,07	0,14±0,10
	>50	0,58±0,07	0,34±0,32	1,28±0,32	0,65±0,13	0,37±0,09	1,76±0,47	0,66±0,17	2,82±0,68	0,49±0,18
	p-value	0,6782	0,9576	0,7267	0,6323	0,9331	0,1342	0,5662	0,9220	0,4413
Размер опухоли	T1-2	0,61±0,13	<b>0,38±0,08</b>	1,55±0,38	0,38±0,10	0,32±0,09	<b>3,56±1,10</b>	1,13±0,39	2,61±1,04	0,22±0,13
	T3-4	0,55±0,07	<b>0,29±0,08</b>	1,24±0,34	0,67±0,13	0,47±0,15	<b>1,79±0,61</b>	0,68±0,19	2,97±0,72	0,54±0,19
	p-value	0,6024	<b>0,0386</b>	0,1839	0,7398	0,5215	<b>0,0084</b>	0,0575	0,6522	0,4237
Лимфогенное метастазирование	N0	0,53±0,11	0,40±0,11	0,76±0,14	0,43±0,20	0,28±0,07	2,33±1,45	0,77±0,29	1,67±0,73	0,23±0,05
	N1-3	0,57±0,07	0,28±0,09	1,49±0,37	0,68±0,13	0,50±0,16	2,07±0,54	0,77±0,21	3,32±0,77	0,54±0,19
	p-value	0,8707	0,0569	0,4823	0,0779	0,7869	0,4488	0,6188	0,2022	0,8415
Клинико-анатомическая форма	Периферический	0,55±0,09	0,28±0,06	1,45±0,64	0,59±0,14	0,43±0,13	1,12±0,36	0,65±0,29	3,68±1,21	0,69±0,39
	Центральный	0,57±0,08	0,33±0,11	1,19±0,19	0,64±0,17	0,45±0,19	2,85±0,87	0,85±0,21	2,35±0,60	0,37±0,14
	p-value	0,9757	0,5200	0,2391	0,7065	0,2388	0,5271	0,3382	0,3997	0,5987
Гистологический тип	Плоскоклеточный	0,55±0,07	0,32±0,09	1,48±0,39	0,53±0,12	0,43±0,16	2,65±0,74	0,80±0,23	2,18±0,49	0,35±0,20
	Аденокарцинома	0,50±0,10	0,33±0,14	0,87±0,22	0,64±0,13	0,47±0,18	0,82±0,31	0,69±0,25	5,26±1,87	0,51±0,25
	p-value	0,8452	0,9458	0,4897	0,1331	0,1811	0,5554	0,5331	0,0571	0,5271

Примечания: в таблице представлены средние значения экспрессии генов ± ошибка (Mean±SE); p-value- уровень значимости; жирным выделен статистически значимый уровень

**Таблица 3. Уровень экспрессии генов монорезистентности в опухоли после НХТ в зависимости от наличия гематогенных метастазов**

Ген	Гематогенные метастазы и рецидивы		p-value
	Наличие (n = 16)	Отсутствие (n = 36)	
RRM1	0,65±0,11	0,52±0,07	0,2593
ERCC1	<b>0,39±0,07</b>	<b>0,28±0,10</b>	<b>0,0068</b>
ABCC5	1,02±0,18	1,43±0,40	0,5976
GSTP1	0,41±0,09	0,72±0,16	0,5856
TOP1	0,36±0,09	0,48±0,18	0,5156
TOP2A	1,78±0,53	2,30±0,75	0,4162
TYMS	0,46±0,13	0,91±0,24	0,5355
TUBB3	<b>1,52±0,62</b>	<b>3,53±0,83</b>	<b>0,0218</b>
BRCA	0,29±0,13	0,58±0,23	0,5541

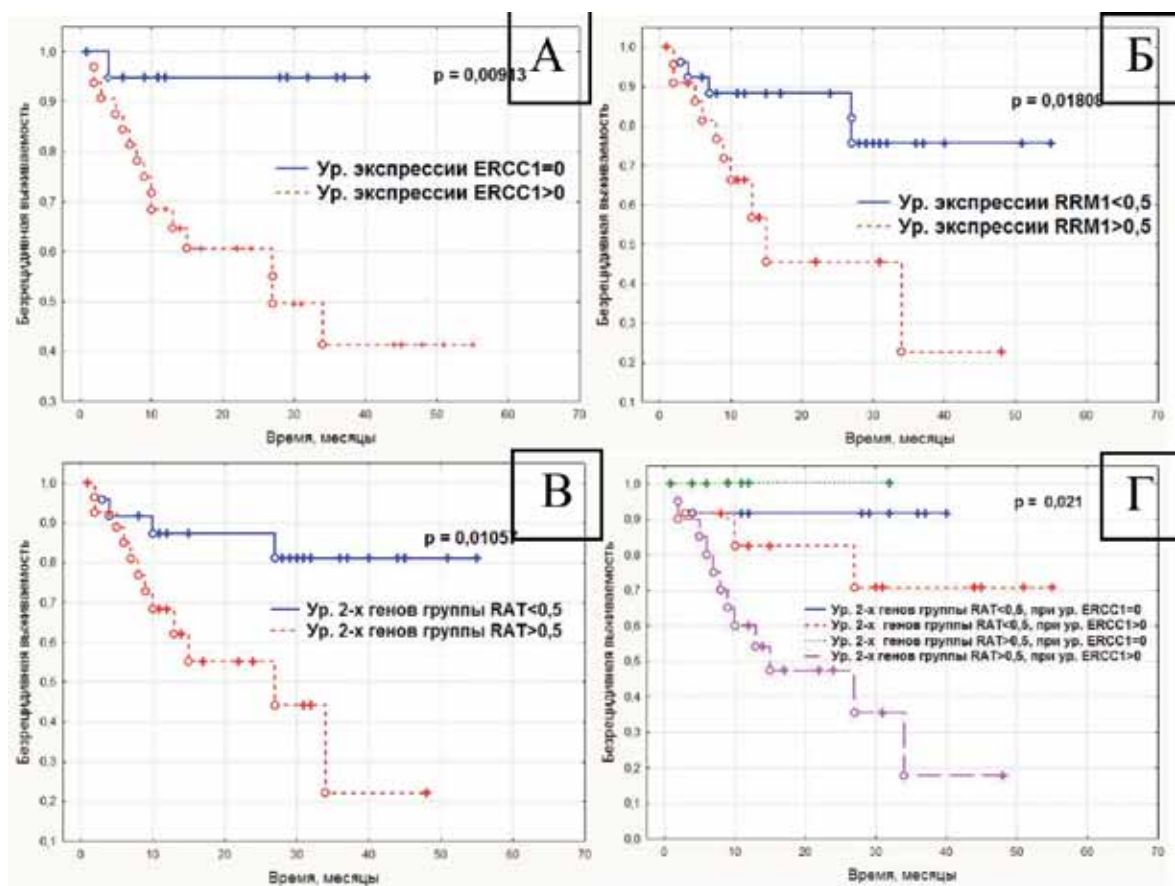


Рис. 1. – Безрецидивная выживаемость больных НМРЛ в зависимости от уровня экспрессии в опухоли после НХТ генов монорезистентности: А – гена эксцизионной репарации *ERCC1* – Excision Repair Cross-Complementation Group 1; Б – гена *RRM1* – Ribonucleotide Reductase Catalytic Subunit M1; В – трех генов монорезистентности *RRM1*, *ABCC5* и *TYMS* (RAT); Г – от уровня экспрессии *RRM1*, *ABCC5* и *TYMS* (RAT) и при различных значениях экспрессии *ERCC1*  
 Примечание: p – уровень статистической значимости по log-rank test

рецидивов уровень экспрессии *ERCC1* статистически значимо выше, по сравнению с группой без метастазов и рецидивов. Противоположный результат показан для гена *TUBB3*, низкий уровень его экспрессии связан в метастазированием (табл. 3). Эти результаты согласуются с недавними клиническими исследованиями, в которых показано, что низкий уровень экспрессии *ERCC1* и высокий уровень *TUBB3* благоприятно влияют на показатели выживаемости [7, 14].

С использованием метода Каплана-Майера было показано, что при полном отсутствии в опухоли легкого после НХТ экспрессии гена эксцизионной репарации ДНК *ERCC1* безрецидивная выживаемость составила 95% против 42% у пациентов при наличии любого уровня экспрессии данного гена больше 0 (log-rank test  $p=0,00913$ ) (рис. 1А). В аналогичном исследовании Huang Z.L. et al (2016) было установлено, что пациенты с низкой или отсутствующей экспрессией *ERCC1* и *BRCA1* имели более высокие показатели выживаемости после адъювантного лечения цисплатином, по сравнению с группой, у которых наблюдалась экспрессия данных генов [7].

Подобный результат был получен нами для гена *RRM1*, являющегося маркером чувствительности к гемцитабину [2]. Низкий уровень экспрессии (менее 0,5) сопряжен с высокими показателями выживаемости (log-rank test  $p=0,01808$ ), тогда как высокий уровень является маркером плохого прогноза (рисунок 1Б). Как оказалось, экспрессия двух других маркеров чувствительности к гемцитабину *TYMS* и *ABCC5* [2] не связана с прогнозом заболевания. Тем не менее, с показателями безрецидивной выживаемости был сопряжен паттерн экспрессии трех генов, определяющих чувствительность к гемцитабину: *RRM1*, *ABCC5* и *TYMS* (группа RAT). Было установлено, что при сочетании повышенной экспрессии (более 0,5) любых двух или всех генов группы RAT, показатели безрецидивной выживаемости составили 22% (log-rank test  $p=0,01057$ ) (рис. 1В). Полученный результат свидетельствует о целесообразности оценки экспрессии нескольких маркеров.

Было показано, что отсутствие экспрессии гена *ERCC1* является независимым от экспрессии других генов прогностическим фактором. При нулевом уровне *ERCC1* в опухоли

ли легкого независимо от высокого ( $RAT > 0,5$ ) или низкого ( $RAT < 0,5$ ) уровня генов *RRM1*, *ABCC5* и *TYMS* отмечается высокая безрецидивная выживаемость (100% и 92%, соответственно) ( $p = 0,021$ ) (рис. 1Г), метастазы были отмечены только у 1 из 12 больных. В то же время в группе пациентов с наличием повышенной экспрессии генов *RRM1*, *ABCC5*, *TYMS* и *ERCC1* метастазы наблюдались у 12 из 20 больных (60%).

Сравнительно недавно была предпринята попытка комбинации нескольких экспрессионных маркеров. Была показана обратная корреляция между уровнем экспрессии генов *BRCA1*, *ERCC1* ( $p < 0,0001$ ) и *RRM1* ( $p < 0,0001$ ). По мере увеличения уровня *BRCA1*, вероятность хорошего ответа на АХТ увеличивалась (при  $p < 0,001$ ), а риск прогрессирования и смерти уменьшался. Увеличение уровня экспрессии генов *ERCC1*, *RRM1* и *RRM2* в процессе лечения больных НМРЛ указывало на отсутствие эффекта АХТ ( $p < 0,001$ ;  $p = 0,083$ ;  $p = 0,005$ , соответственно), а также повышенный риск прогрессирования (*ERCC1* при  $p = 0,002$ ; *RRM1*  $p = 0,039$ ; *RRM2*  $p = 0,041$ ) и уменьшение показателей общей выживаемости (*ERCC1*  $p = 0,008$ ; *RRM1*  $p = 0,023$ ; *RRM2*,  $p = 0,017$ ) [20].

Таким образом, были получены данные о прогностической значимости экспрессии в опухоли легкого после НХТ по схеме винорельбин-карбоплатин генов монорезистентности: *ERCC1*, *TUBB3*, *RRM1*, *ABCC5* и *TYMS*. Эти данные показывают перспективность исследования молекулярных маркеров в опухоли после химиотерапии в качестве прогностических факторов.

*Исследования выполнены при поддержке Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития национально-технологического комплекса России на 2014-2020 годы», соглашение № 14.575.21.0064 от 05 августа 2014 года (RFMEFI57514X0064) и программой повышения конкурентоспособности ТГУ*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Трахтенберг А.Х., Колбанов К.И. Рак легкого // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2008. – №4. – С.3-9.
2. Цыганов М.М., Родионов Е.О., Миллер С.В., Литвяков Н.В. Обоснование использования экспрессионных маркеров для персонализации химиотерапии рака легкого // Антибиотики и химиотерапия. – 2014. – Т.60(9-10). – С.38-45.
3. Юмов Е.Ю., Цыганов М.М., Литвяков Н.В., Полищук Т.В. и др. Экспрессия генов множественной лекарственной устойчивости и монорезистентности при немел-

коклеточном раке легкого // Сибирский онкологический журнал. – 2014. – Т.61(1). – С.16-22.

4. Betticher D.C., Schmitz S.-F.H., Tötsch M. et al. Mediastinal lymph node clearance after docetaxel-cisplatin neoadjuvant chemotherapy is prognostic of survival in patients with stage IIIA pN2 non-small-cell lung cancer: A multicenter phase II trial // Journal of Clinical Oncology. – 2003. – Vol.21(9). – P.1752-1759.
5. Fujii T., Toyooka S., Ichimura K. et al. ERCC1 protein expression predicts the response of cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy in non-small-cell lung cancer // Lung Cancer. – 2008. – Vol.59(3). – P.377-384.
6. Goldstraw P., Crowley K.J., Chansky D.J. et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours // Journal of Thoracic Oncology. – 2007. – Vol. 2 (8). – P. 706-714.
7. Huang Z.L., Cao X., Luo R.Z. et al. Analysis of ERCC1, BRCA1, RRM1 and TUBB3 as predictors of prognosis in patients with non-small cell lung cancer who received cisplatin-based adjuvant chemotherapy: A prospective study // Oncology Letters. – 2016. – Vol. 11 (1). – P. 299-305.
8. Jakobsen J.N., Sørensen J.B. Intratumor heterogeneity and chemotherapy-induced changes in EGFR status in non-small cell lung cancer // Cancer chemotherapy and pharmacology. – 2012. – Vol.69(2). – P.289-299.
9. Jakobsen J.N., Santoni-Rugiu E., Ravn J., Sørensen J.B. Intratumour variation of biomarker expression by immunohistochemistry in resectable non-small cell lung cancer // European Journal of Cancer. – 2013. – Vol. 49 (11). – P. 2494-2503.
10. Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations // Journal of the American statistical association. – 1958. – Vol.53(282). – P. 457-481.
11. Kucukoztas N., Oguz A., Rahatli S. et al. Correlation of histopathologic response and prognostic markers with survival in locally advanced non-small cell lung cancer patients who have treated with neoadjuvant chemotherapy // Journal of Clinical Oncology. – 2015. – Vol. 33 (15).
12. Litviakov N.V., Cherdyntseva N.V., Tsyganov M.M. et al. Changing the expression vector of multidrug resistance genes is related to neoadjuvant chemotherapy response // Cancer chemotherapy and pharmacology. – 2013. – Vol.71(1). – P.153-163.
13. Pfaffl M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR // Nucleic acids research. – 2001. – Vol.29(9). – P.45.
14. Reynolds C., Obasaju C., Schell M.J. et al. Randomized phase III trial of gemcitabine-based chemotherapy with in situ RRM1 and ERCC1 Protein levels for response prediction in non-small-cell lung cancer // Journal of Clinical Oncology. – 2009. – Vol. 27 (34). – P. 5808-5815.
15. Shatokhina S.N., Zakharova N.M., Dedova M.G. et al. Morphological marker of tumor progression in laryngeal cancer // Voprosy onkologii. – 2013. – Vol. 59 (2). – P. 66-70.
16. Song W.-A., Zhou N.-K., Wang W. et al. Survival benefit of neoadjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer: an updated meta-analysis of 13 randomized control trials // Journal of Thoracic Oncology. – 2010. – Vol.5(4). – P.510-516.

17. Stanley K.E. Prognostic factors for survival in patients with inoperable lung cancer // Journal of the National Cancer Institute. – 1980. – 65(1). – P.25-32.
18. Steels E., Paesmans M., Berghmans T. et al. Role of p53 as a prognostic factor for survival in lung cancer: a systematic review of the literature with a meta-analysis // European Respiratory Journal. – 2001. – 18(4). – P. 705-719.
19. Wei C.H., Gorgan T.R., Elashoff D.A. et al. A meta-analysis of gemcitabine biomarkers in patients with pancreatico-biliary cancers // Pancreas. – 2013. – Vol.42(8). – P.1-16.
20. Zhao H., Zhang H., Du Y., Gu X. Prognostic significance of BRCA1, ERCC1, RRM1, and RRM2 in patients with advanced non-small cell lung cancer receiving chemotherapy // Tumor Biology. – 2014. – Vol.35(12). – P.12679-12688.

Поступила в редакцию 22.08.2016 г.

*M.M. Tsyganov<sup>1,2</sup>, E.O. Rodionov<sup>1</sup>, I.V. Deryusheva<sup>1</sup>, S.V. Miller<sup>1</sup>, M.K.Ibragimova<sup>1,2</sup>, L.F. Pisareva<sup>1</sup>, Ju.G. Kzhyshkowska<sup>2,3</sup>, S.A. Tuzikov<sup>1</sup>, N.V. Cherdyntseva<sup>1,2</sup>, N.V. Litviakov<sup>1,2\*</sup>*

**Prognostic significance of monoresistance gene expression in the tumors of patients with small cell lung cancer after preoperative chemotherapy.**

<sup>1</sup> Cancer Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk;

<sup>2</sup> National Research Tomsk State University, Tomsk;

<sup>3</sup> Institute of Transfusion Medicine and Immunology, Medical Faculty Mannheim, University of Heidelberg, Mannheim, Germany

Abstract. A significant role in the development of lung tumor resistance to drug therapy play so called mono resistance genes that determine resistance/sensitivity of tumor cells to distinct chemotherapeutic agents, they include *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2a*, *TUBB3*, *TYMS*, *ABCC5* genes. It is shown that the use of these biomarkers as a criteria to appoint the adequate postoperative chemotherapy is associated with the forecast. However in the course of neoadjuvant chemotherapy change the expression profile of these genes can occur, which can lead to misinterpretation of results. In this regard perspective is the development of new relevant prognostic factors, which take into account occurred molecular genetic alterations in lung tumors after preoperative therapy. We presented the results of the combined treatment of 52 patients with NSCLC IIA — IIIB stage, based on the analysis of chemotherapy resistance/sensitivity gene expression for appointment the suitable drugs. It was found that the lack of expression of *ERCC1* gene in lung tumor derived after neoadjuvant chemotherapy is associated with high rates of disease-free survival ( $p = 0,00913$ ). Low level expression of *RRM1* gene (less than 0.5) is also associated with high rates of patient's survival (log-rank test  $p = 0,01808$ ), while a high level is a marker of poor prognosis. It is found that the combination of enhanced expression ( $>0.5$ ) of any two or three genes: *RRM1*, *ABCC5*, *TYMS*, are the indicators of poor disease-free survival.

We have shown that expression of *ERCC1* gene is the independent prognostic factor. At zero *ERCC1* expression in lung tumors, regardless of high or low level of expression of *RRM1*, *ABCC5*, *TYMS* genes, a high recurrence-free survival is observed. Thus, the data suggest the prognostic significance of the expression of *ERCC1*, *TUBB3*, *RRM1*, *ABCC5* and *TYMS* genes in the lung tumor after neoadjuvant chemotherapy.

Keywords: non-small cell lung cancer, neoadjuvant chemotherapy, monoresistance genes, disease-free survival, prognosis