

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ОНКОЛОГИИ

На правах рукописи



РОДИОНОВ ЕВГЕНИЙ ОЛЕГОВИЧ

**КОМБИНИРОВАННОЕ ЛЕЧЕНИЕ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО
III СТАДИИ С ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ХИМИОТЕРАПИЕЙ
И ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫМ НАЗНАЧЕНИЕМ АДЬЮВАНТНОЙ
ХИМИОТЕРАПИИ**

14.01.12 – онкология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук
Миллер Сергей Викторович

Научный консультант:
доктор биологических наук
Литвяков Николай Васильевич

Томск – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Эпидемиологические и статистические данные	13
1.2 Хирургическое лечение местнораспространенного НМРЛ	16
1.3 Химиотерапия в комбинированном лечении НМРЛ.....	20
1.3.1 Неoadъювантная химиотерапия.....	20
1.3.2 Адъювантная химиотерапия	24
1.4 Персонализированная химиотерапия в лечении немелкоклеточного рака легкого	26
1.4.1 Химиорезистентность НМРЛ.....	26
1.4.2 Препараты платины и предикторы для их назначения	30
1.4.3 Винорелбин и предикторы для его назначения	33
1.4.4 Таксаны и предикторы для их назначения	34
1.4.5 Гемцитабин и предикторы для его назначения.....	36
1.4.6 Доксорубицин и предикторы для его назначения	38
1.4.7 Иринотекан и предикторы для назначения	39
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	42
2.1 Общая характеристика клинического материала.....	42
2.2 Методика комбинированного и хирургического лечения больных раком легкого	46
2.3 Методика выделения РНК и количественная полимеразная цепная реакция	49
2.4 Оценка результатов комбинированного лечения.....	52
2.5 Статистические методы	54
ГЛАВА 3 НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЛЕГКОГО III СТАДИИ.....	55
3.1 Эффективность неoadъювантной химиотерапии	55
3.2 Осложнения неoadъювантной химиотерапии	56
3.3 Течение послеоперационного периода.....	58
3.4 Лечебный патоморфоз при проведении неoadъювантной химиотерапии	61

3.5	Экспрессия генов монорезистентности в опухоли больных немелкоклеточным раком легкого после предоперационной химиотерапии	63
3.6	Послеоперационная химиотерапия и оценка токсичности в сравниваемых группах	68
3.7	Отдаленные результаты комбинированного лечения больных НМРЛ III стадии	69
3.8	Связь экспрессии генов монорезистентности с безрецидивной и общей выживаемостью больных НМРЛ III стадии	76
ЗАКЛЮЧЕНИЕ		85
ВЫВОДЫ		93
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....		94
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....		95

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ	- аланинаминотрансфераза
АСТ	- аспаратаминотрансфераза
АХТ	- адьювантная химиотерапия
БРВ	- безрецидивная выживаемость
ВОЗ	- Всемирная организация здравоохранения
Г-КСФ	- гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
ДИ	- доверительный интервал
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ИГХ	- иммуногистохимия
ЛП	- лечебный патоморфоз
МАИР	- Международное агентство по изучению рака
мРНК	- матричная рибонуклеиновая кислота
НАХТ	- неoadьювантная химиотерапия
НМРЛ	- немелкоклеточный рак легкого
ОВ	- общая выживаемость
ОР	- отношение рисков
ПЭТ-КТ	- позитронно-эмиссионная компьютерная томография
СКТ	- спиральная компьютерная томография органов грудной
ОГК	клетки
ЭКМО	- экстракорпоральная мембранная оксигенация
ABC	- ATP-Binding Cassette
ABCC5	- ATP binding cassette subfamily C member 5 (подсемейство C5 ABC-транспортеров)
ALK	- anaplastic lymphoma kinase (киназа анапластической лимфомы)
AUC	- area under the curve (площадь под кривой)
BRCA1	- breast cancer 1 (ген рака молочной железы 1)

CTCAE	- Common Terminology Criteria for Adverse Events (Общие критерии для нежелательных явлений)
EGFR	- epidermal growth factor receptor (рецептор эпидермального фактора роста)
ERCC1	- ген эксцизионной репарации
F	- критерий Фишера
GSTP1	- Glutathione S-transferase P1 (глутатион S-трансфераза P1)
IASLC	- International Association for the Study of Lung Cancer (Международная ассоциация по изучению рака легких)
NER	- эксцизионная репарация нуклеотидов
RECIST	- Response Evaluation Criteria in Solid Tumours (критерии оценки ответа солидных опухолей)
RRM1	- Ribonucleotide Reductase Catalytic Subunit M1 рибонуклеотид-редуктаза М класса I
SEER	- Surveillance, Epidemiology, and End Result Program (Программа наблюдения, эпидемиологии и конечного результата)
SNP	- single nucleotide polymorphism (однонуклеотидный полиморфизм)
T	- критерий Стьюдента
TOP1	- topoisomerase (топоизомераза 1)
TOP2 α	- topoisomerase 2-alpha (топоизомераза 2 α)
TUBB3	- class III β -tubulin (класс III β -тубулина)
TYMS	- thymidylate synthase (тимидилатсинтаза)
VATS	- video-assisted thoracic surgery (минимально инвазивная видеоассистированная торакальная хирургия)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Во всех экономических развитых странах проблема рака легкого представляет одну из наиболее важных и в то же время сложных. Это обусловлено неуклонным ростом заболеваемости и смертности, а также трудностями своевременной диагностики и недостаточной эффективностью лечения [7].

Местнораспространенная форма, или III стадия болезни, встречается у 30% пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) [12]. Лечение местнораспространенного НМРЛ остается сложной и противоречивой задачей, что большей частью связано с разными степенями распространенности первичной опухоли, объединенными в III стадию по классификации TNM. Традиционно местнораспространенный рак разделяют на IIIA стадию с 24 % пятилетней выживаемостью и IIIB стадию с неблагоприятным прогнозом и 9 % пятилетней выживаемостью [38, 124].

Расширенные и расширенно-комбинированные операции с систематической ипсилатеральной медиастинальной лимфодиссекцией позволили улучшить показатели резектабельности с 59–72 % до 90 %, но, к сожалению, данные вмешательства не в полной мере оправдали надежды на увеличение выживаемости больных раком легкого [153]. Условная радикальность хирургического вмешательства при III стадии НМРЛ обусловлена высокой вероятностью наличия субклинических метастазов, поэтому в лечении данной категории больных требуется использование системной химиотерапии [1, 129]. Список основных конвенциональных химиопрепаратов, которые в настоящее время чаще всего используются для лечения НМРЛ, достаточно ограничен и включает в себя препараты платины, винорелбин, таксаны (паклитаксел и доцетаксел), гемцитабин, иринотекан, доксорубицин, этопозид и пеметрексед. Обычно используются платиносодержащие дублеты с другим цитостатиком из представленного списка [10].

Вопреки огромным усилиям, направленным на разработку новых схем химиотерапии, терапевтические результаты остаются неудовлетворительными [142]. Основным препятствием является недостаточно эффективный выбор химиотерапевтических агентов, основанный на стандартных критериях: удобстве введения, профиле токсичности цитостатиков, опыте врача и т.д. Зачастую пациенты различаются по агрессивности течения заболевания, несмотря на сходные клинико-морфологические параметры.

В последнее время все чаще высказывается мнение о том, что индивидуальная химиотерапия, основанная на определении молекулярных биомаркеров химиочувствительности, представляет собой новый путь для лечения больных НМРЛ [61, 182]. Изучение биомаркеров чувствительности исходит из растущего понимания молекулярных механизмов действия химиопрепаратов, поэтому персонализированное назначение цитотоксических препаратов на основании молекулярных биомаркеров позволит повысить эффективность химиотерапии и/или уменьшить побочные явления проводимого лекарственного лечения [182]. Совместное обнаружение различных генов монорезистентности может повысить их предсказательную значимость [78, 95].

Перспективными маркерами в отношении химиочувствительности являются 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. В настоящее время при немелкоклеточном раке легкого охарактеризованы такие гены монорезистентности, как *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2 α* , *TUBB3*, *TYMS* и *ABCC5* [15, 66, 68, 75, 82, 115]. В устранении последствий модификации ДНК под воздействием препаратов платины решающую роль играет так называемая нуклеотидная эксцизионная репарация ДНК, ключевым ферментом которого является *ERCC1* [29]. Высокая экспрессия β -тубулина III класса может снизить лечебный эффект таксанов и винкаалкалоидов [75]. Положительный результат при назначении антрациклинов более вероятен при активации мишени этих

препаратов – топоизомеразы II-альфа [167] . Избыток тимидилатсинтетазы (*TYMS*) приводит к тому, что переносимые дозы гемцитабина не могут «насытить» этот фермент и оказываются заведомо неэффективными [151]. Высокий уровень экспрессии *RRM1* ассоциируется с увеличенной репарацией поврежденной ДНК, обуславливая резистентность к гемцитабину [37]. На клеточных линиях аденокарциномы лёгких было продемонстрировано, что чувствительность к иринотекану пропорциональна уровню *TOP1* [93]. Была установлена обратная зависимость между экспрессией *ABCC5* и чувствительностью клетки к гемцитабину [64], *BRCA1* играет решающую роль в репарации повреждений ДНК, контроле транскрипции, регуляции клеточного цикла и апоптоза [137, 160].

Таким образом, представляется перспективным определение генов монорезистентности в опухоли НМРЛ с целью персонализации конвенциональной химиотерапии, что позволит планировать лечение конкретного больного и повысить эффективность химиотерапии.

Цель исследования

Улучшение результатов комбинированного лечения немелкоклеточного рака легкого III стадии с использованием предоперационной химиотерапии, радикального хирургического вмешательства и персонализированного назначения адъювантной химиотерапии на основании уровней экспрессии генов монорезистентности в опухоли.

Задачи исследования

1. Разработать способ комбинированного лечения больных немелкоклеточным раком легкого III стадии, включающий неoadъювантную химиотерапию, радикальное хирургическое вмешательство и персонализированную адъювантную химиотерапию.

2. Изучить непосредственную эффективность неoadъювантной химиотерапии по схеме винорелбин / карбоплатин, а также частоту и характер осложнений,

возникающих у больных немелкоклеточным раком легкого III стадии на этапах комбинированного лечения.

3. Изучить связь уровней экспрессии генов монорезистентности в опухолевой ткани немелкоклеточного рака легкого после проведения неoadъювантной химиотерапии с клинико-морфологическими параметрами.

4. Изучить трехлетнюю выживаемость больных с комбинированным лечением немелкоклеточного рака легкого III стадии.

5. Оценить связь экспрессии генов монорезистентности с выживаемостью больных немелкоклеточным раком легкого III стадии и определить значимые маркеры для назначения персонализированной адъювантной химиотерапии.

Научная новизна

Разработан новый способ комбинированного лечения немелкоклеточного рака легкого III стадии, включающий проведение неoadъювантной химиотерапии с последующим радикальным хирургическим вмешательством и персонализированную адъювантную химиотерапию, выбор схемы которой зависит от уровня экспрессии генов монорезистентности в опухолевой ткани в операционном материале.

Впервые проведено проспективное исследование по назначению адъювантной химиотерапии, основанной на определении уровней экспрессии генов монорезистентности.

Впервые проведен сравнительный анализ общей и безрецидивной выживаемости больных немелкоклеточным раком легкого III стадии, которым проведена персонализированная адъювантная химиотерапия.

Впервые изучена прогностическая значимость экспрессии генов монорезистентности в опухолевой ткани немелкоклеточного рака легкого после проведения предоперационной химиотерапии и определены маркеры для назначения персонализированной адъювантной химиотерапии.

Теоретическая и практическая значимость

В ходе клинической апробации разработанного способа комбинированного лечения НМРЛ показано повышение эффективности проводимого лечения за счет достоверного уменьшения количества местных рецидивов, отдаленных метастазов и улучшения показателей безрецидивной выживаемости на 29,1% по сравнению с группой контроля.

Получены новые данные о связи экспрессии генов монорезистентности *TUBB3* и *RRM1* в опухоли легкого с безрецидивной выживаемостью после предоперационной химиотерапии, что дает основание использовать их в качестве прогностических факторов.

Разработан алгоритм персонализированного назначения АХТ больным НМРЛ после проведения предоперационной химиотерапии по схеме винорелбин/карбоплатин, позволяющий определиться с выбором наиболее эффективной схемы послеоперационной химиотерапии.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Комбинированное лечение, включающее проведение неoadъювантной химиотерапии и радикальной операции с последующим назначением персонализированной схемы адъювантной химиотерапии, улучшает отдаленные результаты у больных немелкоклеточным раком легкого III стадии.

2. Для назначения персонализированной адъювантной химиотерапии по схеме гемцитабин/карбоплатин подтверждена эффективность оценки экспрессии в опухоли легкого гена *RRM1*, а для назначения схемы винорелбин/карбоплатин – оценка экспрессии гена *TUBB3*.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены на Всероссийской конференции молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н.В. Васильева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии» (Томск, 2015-2017 гг.); на форуме «Белые ночи-2015: первый

Российский онкологический научно-образовательный форум с международным участием» (Санкт-Петербург, 2015 г.); Всероссийском конкурсе молодых ученых по онкологии в рамках XX Российского онкологического конгресса (Москва, 2016 г.); IX Съезде онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии (Минск, 2016 г.); XIV Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук» (Томск, 2017 г.); конкурсе научных работ молодых ученых России (Санкт-Петербург, 2017 г.); сессии молодых ученых в рамках III Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи» (Санкт-Петербург, 2017 г.); XXI Российском онкологическом конгрессе (Москва, 2017 г.); Областном обществе онкологов (Томск, 15 декабря 2017 г.).

Публикации

По теме опубликовано 15 научных работ, в том числе 5 статей – в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации материалов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, получен 1 патент РФ на изобретение, зарегистрирована 1 база данных.

Личный вклад автора

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии на этапах отбора пациентов, вошедших в исследование, проведения больным курсов предоперационной химиотерапии, хирургического вмешательства, заборе материала для молекулярно-генетического исследования, определение схемы и проведение персонализированной адъювантной химиотерапии, оценке результатов исследования, их обработке, интерпретации, а также подготовке научных публикаций.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 115 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 11 таблицами и 11 рисунками. Библиографический указатель содержит 186 источников литературы, из них 13 отечественных и 173 иностранных.

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эпидемиологические и статистические данные

В настоящее время в большинстве развитых стран рак легкого является одной из важнейших медицинских и социально-экономических проблем в связи с его лидирующей позицией в структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований [11].

По данным МАИР [50], в 2012 году во всем мире зарегистрировано около 1,8 миллиона новых случаев заболевания раком легкого (12,9 % среди всех случаев рака). Рак легкого является наиболее распространенной формой рака у мужчин, составляя около 1,2 миллиона случаев (16,7 % от общего числа всех случаев рака у мужчин).

В 2012 году в Европе зарегистрировано чуть более 3,4 млн новых случаев злокачественных новообразований (без учета меланомы), из них 53 % (1,8 млн) выявлены у мужчин и 47 % (1,6 млн) у женщин [51]. Заболеваемость раком легкого составила 11,9% (410 000 тыс).

В Российской Федерации [4, 5] в 2015 году первое место в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями мужского населения занимали опухоли трахеи, бронхов, легкого (17,8 %). У женщин злокачественные опухоли легкого составили всего 3,8 %.

В 2015 году в России выявлено 60351 новых случаев рака легкого (24,15 на 100000 населения), в том числе мужчин – 48 139, женщин – 12 212. Средний возраст больных с впервые в жизни установленным диагнозом рака легкого составил 65,3 лет (у мужчин 64,8 лет, у женщин - 67,4 лет).

Среди впервые выявленных больных раком легкого в России I стадия процесса установлена в 11,3 % случаев, II стадия - в 16,0 % случаев. Остается высокой выявляемость на запущенных стадиях. Так, III стадия составила 30,3 %, IV стадия - 32,7 %.

IV стадия - 40 % (в 2005 г. – 33,9 % и 34,5 % соответственно). Стадия не была установлена в 2,3 % случаях.

В Томской области в 2015 году зарегистрировано 480 новых случаев рака легкого (29,23 на 100000 населения), в том числе мужчин - 367 (56,11 на 100 000 населения), женщин - 113 (11,77 на 100 000 населения). Уровень заболеваемости раком легкого в популяции Томской области значительно выше, чем в среднем по России. При сохранении тенденции динамики стандартизованный показатель в 2018 г. может составить 35,8 на 100 000 населения [11].

Рак легкого является также наиболее частой причиной смерти от рака во всем мире и составляет почти 1 из 5 смертей от рака (1,59 миллиона случаев смерти, или 19,4 % от общего числа смертей от рака в 2012 году) [50]. Рак легкого был наиболее частой причиной смерти от рака среди обоих полов в Европе – 353 000 человек (1/5 от общего числа), затем по убывающей - колоректальный рак (почти 215 000 смертей, 12,2 %), рак молочной железы (131 000, 7,5 %) и рак желудка (107 000, 6,1 %). Рак легкого также продолжает оставаться наиболее распространенной причиной смерти от рака у мужчин (254 000, 26,1 %), у женщин рак легкого занимает 3 место по смертности (почти 100 000 смертей, 12,7 %). В странах Европы пятилетняя выживаемость раком легкого всех стадий составила 4,9 % [51].

В структуре смертности населения России от злокачественных новообразований в 2015 году опухоли трахеи, бронхов, легкого занимали лидирующие позиции (17,3 %), далее следовали опухоли желудка (10,3 %), ободочной кишки (7,9 %), молочной железы (7,8 %), поджелудочной железы (5,9 %) и прямой кишки (5,7 %).

Структура смертности от злокачественных новообразований мужского и женского населения имеет существенные различия. Более 1/4 (26,5 %) случаев смерти мужчин обусловлены раком трахеи, бронхов, легкого. В структуре смертности женщин опухоли трахеи, бронхов, легкого составляют всего 6,8 %, уступая смертности от злокачественных новообразований молочной железы (16,7 %), ободочной кишки (9,8 %), желудка (9,3 %). Средний возраст умерших

больных от рака трахеи, бронхов, легкого составил в 2015 году 66,1 лет (у мужчин 65,4 года, у женщин – 69,3 года).

В 2015 году в России умерло 51 280 пациентов от рака легкого (20,23 на 100000 населения), в том числе мужчин 41 848, женщин - 9 432. Летальность в течение 1 года после установления диагноза рака легкого составила 50,5 %. В 2015 году [4, 5] в Томской области от рака легкого умерло 411 пациентов (26,62 на 100 000 населения), из них мужчин 360 (55,68 на 100 000 населения) и женщин - 81 (7,72 на 100 000 населения).

По данным SEER [104], в большинстве случаев рак легких диагностируется на запущенных стадиях (57 %), так как заболевание на ранних стадиях обычно протекает бессимптомно; лишь в 16% случаях диагноз устанавливается при локализованном процессе. Данные показатели запущенности заболевания непосредственно влияют на результаты лечения и обуславливают высокие показатели смертности. Пятилетняя выживаемость при локализованном процессе составляет 55 %, при местнораспространенном процессе – 27 %, а при наличии отдаленных метастазов – 4 %.

Согласно данным Международной ассоциации по изучению рака легких (IASLC), общая пятилетняя выживаемость вне зависимости от варианта лечения при IA стадии немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) составляет 66 %, IB стадии - 56 %, IIA стадии - 43 %, IIB стадии - 35 % и IIIA стадии - 23 % [38]. Пятилетняя выживаемость для IIIB и IV стадий составляет меньше 10 % [57]. Менее чем 7 % пациентов живы через 10 лет после установления диагноза рака легкого [41].

Таким образом, неудовлетворительные показатели выживаемости при местнораспространенном немелкоклеточном раке легкого диктуют необходимость поиска новых методов комбинированного лечения немелкоклеточного рака легкого. Улучшение выживаемости больных раком легкого является серьезной проблемой для современной мультимодальной стратегии лечения.

1.2 Хирургическое лечение местнораспространенного НМРЛ

Хирургическое лечение является основным методом лечения для I и II стадии НМРЛ и является важным компонентом в комплексном подходе при III стадии заболевания. Стандартная резекция включает в себя удаление пораженной доли или легкого с систематической ипсилатеральной медиастинальной лимфодиссекцией [16].

III стадия НМРЛ включает в себя гетерогенную группу опухолей: резектабельные опухоли с оккультными микроскопическими метастазами в лимфоузлы и неоперабельные опухоли с массивным поражением лимфоузлов средостения [16, 141]. Пациентов со стадией опухоли T1-2 pN2 можно разделить на 3 группы:

1) с интраоперационной находкой pN2, несмотря на предоперационное обследование. Частота колеблется от 4,7 % до 26 % [15, 36, 58]. В этой подгруппе пациентов хирургическая резекция должна быть продолжена с выполнением лобэктомии и лимфаденэктомией. Cerfolio R.J. с соавт. [35] сообщили о 5-летней выживаемости 35 % у пациентов данной группы, перенесших радикальную резекцию с последующей адъювантной терапией;

2) с предоперационными признаками N2-поражения на основании результатов СКТ или ПЭТ-КТ и патоморфологического подтверждения. В этой группе больных предпочтительнее мультимодальная терапия [131]. Ripley R.T. и Rusch V.W. с соавт. опубликовали обзор о роли индукционной терапии у больных НМРЛ, в котором авторы предполагают, что мультимодальная терапия должна быть стандартной при лечении больных стадии IIIA пациентов с N2-поражением лимфоузлов [130];

3) с массивным поражением лимфоузлов средостения («Bulky N2»). Больные этой группы должны получать комбинированную химиолучевую терапию, и только в отдельных случаях с хорошим ответом на лечение следует решать вопрос о хирургической резекции [141].

По данным литературы выполнение расширенной резекции оправдано у пациентов с местнораспространенным НМРЛ [71, 162]. В специализированных центрах практически отсутствуют технические противопоказания к резекции местнораспространенных опухолей легкого [171]. У тщательно отобранных пациентов с инфильтрацией трахеи, карины, предсердия, стенки грудной клетки, позвоночника, крупных сосудов и пищевода возможно выполнение хирургического вмешательства [127, 162]. Izbicki J.R. с соавт. [71] показали, что у пациентов, перенесших расширенные оперативные вмешательства при стадии Т3 или Т4 немелкоклеточного рака легкого, трехлетняя выживаемость составила 33 %. Исследование Hillinger S. с соавт. [65] показало, что у пациентов с распространенностью Т4 возрастает 5-летняя выживаемость с 15 до 35 % после радикальной резекции с приемлемой периоперационной смертностью. Spaggiari L. с соавт. [153] сообщили о 39 % трехлетней общей выживаемости после расширенной пневмонэктомии с частичной резекцией левого предсердия при местнораспространенном раке легкого.

В случае распространения опухоли на позвоночник, обнадеживающие результаты выживаемости могут быть достигнуты даже после резекции до четырех тел позвонков [63]. Кроме того, в случае обширной резекции опухоли возможно использование экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО), которая считается безопасной альтернативой искусственному кровообращению после пневмонэктомии или даже резекции бифуркации трахеи [88, 92].

В случае опухолевого поражения стенки грудной клетки (Т3 согласно классификации TNM 2009 г.), состояние лимфатического аппарата (N2) не следует рассматривать как противопоказание для выполнения лобэктомии с резекцией грудной стенки с систематической или выборочной медиастинальной лимфодиссекцией. Уровень 5-летней выживаемости после радикальной резекции у больных Т3N2 стадией заболевания составляет 21 % [99].

Злокачественные опухоли легкого в непосредственной близости или с вовлечением бифуркации трахеи являются зачастую нерезектабельными. Тем не менее, радикальное хирургическое удаление опухоли (бронхопластические

операции с резекцией трахеи и карины) возможно для тщательно отобранной группы пациентов, у которых опухоль не имеет распространения на жизненно важные структуры [14, 62, 107]. Использование бронхопластических операций у этих больных может значительно улучшить результаты лечения и выживаемость [116]. Показано, что у больных с радикальной резекцией и pN0 5-летняя выживаемость колеблется в диапазоне от 25 % до 45 %, но составляет менее 15 % у пациентов с послеоперационной pN2 стадией заболевания [18].

В случае прорастания опухоли в легочную артерию возможно выполнение анатомической резекции легкого с ангиопластикой [105]. В настоящее время опубликованы данные нескольких ретроспективных исследований и мета-анализов, доказывающих, что лобэктомия с циркулярной резекцией легочной артерии и/или бронхов представляет собой адекватный лечебный вариант при центральном раке легкого, который позволяет снизить смертность, связанную с пневмонэктомией не в ущерб онкологической радикальности [42, 143, 163, 175]. Качество жизни в послеоперационном периоде также выступает одним из наиболее значимых показателей, которые должны повлиять на решение выполнить органосохранную операцию вместо пневмонэктомии [44].

Важным аспектом в хирургическом лечении является выполнение лимфодиссекции. Во всем мире хирурги используют различные методы лимфаденэктомии, в том числе выборочную биопсию (только выбранных подозрительных лимфатических узлов), выборочную медиастинальную лимфодиссекцию (биопсия и гистологическое исследование сторожевых средостенных лимфатических узлов) и систематическую медиастинальную лимфодиссекцию, которая включает в себя удаление всех групп лимфоузлов [126]. Основанием для полной медиастинальной лимфаденэктомии является теоретическое наличие occultных метастазов в лимфатических узлах или так называемых «прыгающих» метастазов. Таким образом, полная лимфаденэктомия должна быть выполнена у всех пациентов, даже на ранней стадии заболевания [165]. Систематическая лимфаденэктомия средостения играет центральную роль в мультимодальном лечении НМРЛ ввиду необходимости полной резекции и

стадирования [45, 89]. Izbicki J.R. с соавт. [72] показали, что систематическая медиастинальная лимфодиссекция увеличивает процент выявленных положительных (метастатических) лимфатических узлов средостения. Эти данные подтверждены в японском исследовании [179], в котором при систематической медиастинальной лимфаденэктомии обнаружено до 32 % положительных лимфатических узлов, в то время как при выборочной лимфодиссекции обнаружено не более 17 % положительных лимфатических узлов.

Исследования показали, что систематическая медиастинальная лимфодиссекция приводит к существенному снижению местного и системного прогрессирования [46, 89]. В ретроспективном исследовании у больных с I стадией НМРЛ было продемонстрировано, что систематическая медиастинальная лимфодиссекция была благоприятным независимым прогностическим фактором, увеличившая общую выживаемость пациентов [46]. Аналогичные результаты были получены Lardinois D. с соавт. [89], продемонстрировав более длительную безрецидивную выживаемость при I стадии немелкоклеточного рака легкого у пациентов, перенесших систематическую медиастинальную лимфодиссекцию против выборочной лимфаденэктомии ($60,2 \pm 7$ месяцев против $44,8 \pm 8,1$ месяцев).

Все больше появляется публикаций, посвященных хирургическому лечению III стадии НМРЛ при помощи минимально инвазивной видеоассистированной торакальной хирургии (video-assisted thoracic surgery - VATS) [173]. Первоначально многие характеристики, определявшие IIIA стадию заболевания, в том числе размер опухоли, вовлечение смежных структур, метастатическое поражение лимфоузлов, центральная локализация опухоли, предшествующая химиотерапия или лучевая терапия рассматривались как относительные противопоказания для VATS. Однако с увеличением опыта торакоскопических операций показано, что даже опухоли с указанными характеристиками могут быть радикально удалены с помощью VATS [121].

Merritt R.E. с соавт. [103] провели ретроспективный обзор по изучению количества лимфатических узлов, отобранных во время VATS по сравнению с

открытыми лобэктомиями при клинической стадии заболевания N0. Выявлены значимые различия в среднем количестве удаленных лимфатических узлов (15 лимфоузлов при открытой операции против 10 лимфоузлов при VATS; $p=0,003$) и, соответственно, в процентах пациентов, у которых было изменение стадии заболевания - N1 или N2 статус (25 % после открытой операции против 10 % в группе с VATS; $p=0,05$). Авторы сделали выводы, что повышение стадии приводит к важным различиям в показаниях к назначению послеоперационного лечения, и, возможно, влияет на выживаемость в долгосрочной перспективе для этих пациентов. Однако по данным некоторых авторов не выявлено никаких различий в количестве удаленных лимфатических узлов средостения, а также в безрецидивной пятилетней выживаемости [186].

Несколько нерандомизированных исследований ретроспективно рассмотрели отдаленную выживаемость после VATS по сравнению с открытыми операциями и не выявили ущерба при выполнении VATS при IIIA стадии заболевания. В частности, Yang X. с соавт. сравнили результаты лечения в общей сложности 621 пациента НМРЛ. Из них 67 пациентов имели IIIA стадию, а выполнение VATS-лобэктомии было возможно лишь у 13 % этих больных. У данных пациентов 5-летняя общая выживаемость составила 22 %, которая не отличалась от 24 % 5-летней общей выживаемости у пациентов, перенесших открытые операции [177].

1.3 Химиотерапия в комбинированном лечении НМРЛ

1.3.1 Неoadьювантная химиотерапия

Основная задача неoadьювантной химиотерапии (НАХТ) состоит в повреждении опухолевых клеток, снижении степени их злокачественности, санации лимфатических путей корня легкого и средостения для предупреждения лимфо- и гематогенного метастазирования и, следовательно, рецидива болезни [10]. При использовании химиотерапии в неoadьювантном режиме наблюдается

лучшая переносимость, чем в послеоперационном периоде, повышается ее эффективность при неизменном кровоснабжении опухоли до операции, а также повышается возможность проведения всех запланированных курсов химиотерапии. Эффективность предоперационной химиотерапии определяется уменьшением размеров опухоли, повышением операбельности и резектабельности опухоли, ликвидации или профилактики микрометастазов [31, 184].

Результаты нескольких проспективных клинических испытаний II фазы показали, что неоадьювантная терапия эффективна при НМРЛ для понижения стадии, при этом некоторые исследования сообщают об увеличении общей выживаемости. В 1992 году Strauss G.M. с соавт. завершил II фазу исследования, в котором оценил результаты лечения пациентов со стадией IIIA НМРЛ с неоадьювантной химиотерапией цисплатин/винбластин/фторурацил и лучевой терапией с последующей операцией и адьювантной лучевой терапией. В качестве одного из первых испытаний трехмодальной терапии, это исследование показало, что 66 % пациентов имели полный клинический ответ на неоадьювантную химиолучевую терапию и 17 % больных имели частичный ответ [156]. В 1994 году Rosell R. и соавт. опубликовали результаты III фазы одноцентрового исследования по сравнению неоадьювантной химиотерапии и последующей операцией с только хирургическим лечением. Данное исследование сравнило пациентов с IIIA стадией НМРЛ (N0-2), которые получали неоадьювантную химиотерапию митомицин/циклофосфамид/цисплатин, хирургическое вмешательство и адьювантную лучевую терапию с больными, получавших хирургическое лечение с адьювантной лучевой терапией. Это исследование показало улучшение медианы выживаемости (26 месяцев по сравнению с 8 месяцами) в пользу лечения с неоадьювантной химиотерапией ($p < 0,001$) [134]. Roth J.A. и соавт. провели аналогичное исследование по сопоставлению лечения с неоадьювантной химиотерапией циклофосфамид/этопозид/цисплатин с последующей операцией и адьювантной химиотерапией с только хирургическим лечением у больных с IIIA стадией (N0-2) НМРЛ. Это исследование также

показало улучшение медианы выживаемости (64 месяца по сравнению с 8 месяцами) в пользу неoadьювантной химиотерапии ($p < 0,008$) [138].

Преимущество НАХТ заключается, вероятно, в понижении стадии заболевания, в частности, из-за санации лимфоузлов средостения. Ретроспективный обзор исследований в 2000 году оценил исходы 103 пациентов, перенесших операцию после неoadьювантной терапии стадии IIIA (N2) НМРЛ. Было выявлено, что у пациентов, у которых отмечено уменьшение лимфоузлов средостения, значительно улучшилась 5-летняя выживаемость по сравнению с пациентами с оставшимся N1 и N2-поражением (35,8 % и 9 % соответственно) [30]. В исследовании CALGB 8935 анализ N-статуса после неoadьювантной химиотерапии с последующей операцией также показал, что у пациентов с персистирующим поражением N2-лимфоузлов значительно снижена безрецидивная выживаемость (медиана безрецидивной выживаемости составила 8,2 месяца против 47,8 месяцев у пациентов при отсутствии остаточной болезни N2; $p = 0,01$) [73].

Исследование III фазы SWOG S9900 оценило неoadьювантную химиотерапию по схеме карбоплатин/паклитаксел с хирургическим вмешательством по сравнению с только хирургическим лечением пациентов со стадиями IB, II и IIIA НМРЛ (кроме опухолей Пенкоста или с N2-поражением лимфоузлов). Медиана общей выживаемости составила 62 месяца против 41 месяца соответственно (ОР 0,79; 95 % ДИ 0,60 - 1,06; $p = 0,11$); выживаемость без прогрессирования - 33 месяца против 20 месяцев соответственно (ОР 0,80; 95 % ДИ 0,61 - 1,04; $p = 0,10$) [122].

Рандомизированное исследование Испанской группы по изучению рака легких сравнило результаты лечения 624 пациентов с ранней стадией НМРЛ, которые были разделены на 3 группы: 201 пациент прошел лечение с предоперационной химиотерапией и операцией (предоперационная); 211 пациентов прошли оперативное лечение и адьювантную химиотерапию (адьювантная); и 212 пациентов - только хирургическое лечение (контроль). Химиотерапия в двух первых группах состояла из 3 циклов паклитаксела и

карбоплатина. В результате этого исследования авторы не выявили статистически значимых различий в 5-летней выживаемости без признаков прогрессирования между предоперационной и контрольной группами (38,3 % против 34,1 %, ОР 0,92, $p=0,176$) или между адьювантной и контрольной группами (36,6 % против 34,1 %, ОР 0,96, $p=0,74$). Общая пятилетняя выживаемость составила 46,6 %, 45,5 %, и 44,0 % для предоперационной, адьювантной и контрольной группами соответственно, без существенных различий между группами лечения. Таким образом, исследование Испанской группы по изучению рака легких не показало улучшения безрецидивной выживаемости больных при назначении периоперационной химиотерапии, что обусловлено, скорее всего, включением большого количества пациентов с I стадией НМРЛ (74,3 %, 77,6 % и 73,3 % от предоперационной, адьювантной и контрольной групп соответственно). Тем не менее, исследователи отметили преимущество назначения предоперационной химиотерапии. Учитывая, что процент пациентов, которые начали курс химиотерапии перед операцией (97,0 %) по сравнению с процентом пациентов, которые начали терапию в адьювантной группе (66,2 %) был выше, это исследование указывает, что химиотерапия лучше переносится в неoadьювантном режиме [122].

Мета-анализ результатов 15 рандомизированных контролируемых исследований показал, что неoadьювантная химиотерапия снижает относительный риск смерти на 13 % (ОР 0,87; 95 % ДИ 0,78-0,96, $p=0,007$), что представляет собой абсолютное улучшение выживаемости на 5 % в течение 5 лет (от 40 % до 45 %) для пациентов с резектабельным НМРЛ IB–IIIA стадии, независимо от режима химиотерапии (в большинстве на основе препаратов платины). В этом же исследовании было установлено, что безрецидивная выживаемость (ОР 0,85; 95 % ДИ 0,76-0,94, $p=0,002$) и общая выживаемость (ОР 0,69; 95 % ДИ 0,58-0,82, $p<0,0001$) были улучшены за счет предоперационной химиотерапии. Эти данные показывают, что неoadьювантная химиотерапия с последующей операцией является эффективным подходом лечения, особенно при местнораспространенном раке легкого [31].

1.3.2 Адьювантная химиотерапия

В мировом сообществе большое внимание уделяется проведению адьювантного лечения НМРЛ. Крупное рандомизированное исследование Adjuvant Lung Project (ALPI) включало 1209 пациентов с I, II и IIIA стадиями НМРЛ. Пациенты были распределены на 2 группы: с проведением трех циклов адьювантной химиотерапии по схеме митомицин/виндезин/цисплатин и без адьювантного лечения. Исследование не выявило никаких различий в общей выживаемости (ОР 0,96; 95 % ДИ 0,81-1,13, $p=0,59$) и выживаемости без прогрессирования заболевания (ОР 0,89; 95 % ДИ 0,76-1,03, $p=0,13$) в обеих группах. Только 69 % пациентов получили три запланированных курса, причем нейтропения IV степени наблюдалась у 12 % пациентов [140].

Исследование International Adjuvant Lung Cancer Trial (IALT) включало в себя 1867 пациентов с резектабельными I-IIIА стадиями НМРЛ. Из них 932 пациента получали химиотерапию, а 74 % получили цисплатин в дозе 240 мг/м² или более. Химиотерапия включала три или четыре курса химиотерапии на основе цисплатина наряду с этопозидом (56,5 % пациентов), винорелбином (26,8 %), винбластином (11,0 %) или виндезином (5,8 %). Общая пятилетняя выживаемость в группе адьювантной химиотерапии была существенно выше, чем в группе наблюдения - 44,5 % против 40,4 % (ОР 0,86; 95 % ДИ 0,76-0,98, $p<0,03$), равно как и безрецидивная выживаемость - 39,4 % против 34,3 % (ОР 0,83; 95 % ДИ 0,74-0,94, $p<0,003$). 0,8 % летальных случаев зафиксировано от осложнений химиотерапии [21].

Исследование JBR.10, проведенное в Канаде и США, включало в общей сложности 482 больных с резектабельным немелкоклеточным раком легкого. Химиотерапия проводилась по схеме винорелбин и цисплатин в количестве четырех курсов. Сорок пять процентов пациентов имели IB стадию и 55 % II стадию (за исключением T3N0). Было показано, что химиотерапия значительно увеличивала выживаемость без прогрессирования заболевания (ОР 0,60; 95 % ДИ

0,45-0,79, $p < 0,001$) и общую пятилетнюю выживаемость (69 % против 54 %, ОР 0,78) по сравнению с группой наблюдения. При анализе в подгруппах не было выявлено преимуществ в выживаемости у пациентов IB стадии ($p = 0,79$) в то время как для II стадии медиана выживаемости составила 80 месяцев в группе адъювантной химиотерапии по сравнению с 41 месяцем в группе наблюдения (ОР 0,59; 95% ДИ 0,42-0,85, $p = 0,004$) [172].

Исследование, проведенное Adjuvant Navelbine International Trialist Association (ANITA), также рандомизировало пациентов с IB, II или IIIA стадиями заболеваниями на две группы. В первой группе проводилась адъювантная химиотерапия по схеме винорелбин/цисплатин в количестве 4 курсов, а во второй группе только наблюдение. Химиотерапия значительно увеличила медиану выживаемости (65,7 против 43,7 месяцев) с абсолютной выгодой в 8,6 % за 5 лет (ОР 0,80; 95 % ДИ 0,66-0,96, $p = 0,02$) [48].

Исследование CALGB 9633, включающее 344 пациента с IB стадией заболевания, было единственным крупным исследованием, в котором в схеме химиотерапии применялся карбоплатин вместо цисплатина в комбинации с паклитакселом в количестве 4 курсов. В предварительном докладе на сроке 34 месяца в группе с АХТ отмечено статистически значимое улучшение безрецидивной и общей выживаемости. Тем не менее, при более длительном сроке наблюдения до 74 месяцев значимой разницы в выживаемости выявлено не было (ОР 0,83; 95 % ДИ 0,64-1,08, $p = 0,12$). Исследователи отмечают, что такие факторы, как раннее завершение исследования, назначение карбоплатина, IB стадия НМРЛ могли повлиять на результаты. Впоследствии, расширенный анализ показал преимущества для пациентов, у которых размер опухоли составил 4 см в диаметре и более (ОР 0,69) [155].

Учитывая разнородность описанных исследований, проведено несколько мета-анализов для объединения результатов. Lung Adjuvant Cisplatin Evaluation (LACE) является наиболее важным мета-анализом, в котором объединены результаты лечения 4584 пациентов из пяти крупнейших исследований на основе цисплатин-содержащей химиотерапии. При медиане наблюдения 5,2 года ОР

смерти составил 0,89 (95 % ДИ 0,82-0,96, $p=0,005$) что соответствует 5,4 % 5-летней абсолютной выгоде от адъювантной химиотерапии. Преимущество варьировалась в зависимости от стадии заболевания ($p=0,04$). ОР на стадии IA составил 1,4, IB - 0,93, II и III стадиях - 0,83. Эффект химиотерапии не зависел от влияния таких факторов, как пол, возраст, гистология, тип операции, планируемая лучевая терапия и общая доза цисплатина [120].

Другой метаанализ, основанный на 34 сравнительных исследованиях и включавший 8447 пациентов, зафиксировал преимущества адъювантной химиотерапии (ОР 0,86, 95 % ДИ 0,81-0,92, $p<0,0001$) при абсолютном увеличении выживаемости 4 % (95 % ДИ 3-6) через 5 лет (от 60 % до 64 %) [20]. Результаты более позднего мета-анализа были сходными: ОР смерти составил 0,76 и 5 % снижение 2-летней смертности [185].

Является ли эффект от адъювантной химиотерапии длительным в течение долгого времени? С одной стороны, исследование IALT показало тенденцию к снижению пользы относительно выживаемости и рецидива через 5 лет наблюдения. Это не было связано с уменьшением противоопухолевого эффекта (количество местных рецидивов и отдаленных метастазов было сокращено в течение всего периода наблюдения в группе адъювантной химиотерапии), однако отмечено увеличение количества случаев смерти, не связанных с опухолевым процессом (ОР 1,34, $p=0,06$) [22]. С другой стороны, более длительный период наблюдения в исследовании JBR.10 показал преимущество в общей выживаемости (ОР 0,78, $p=0,04$) и безрецидивной опухоль-специфической выживаемости (ОР 0,73, $p=0,03$), по крайней мере для пациентов с метастатическим поражением лимфоузлов [32].

1.4 Персонализированная химиотерапия в лечении немелкоклеточного рака легкого

1.4.1 Химиорезистентность НМРЛ

Несмотря на растущий интерес к таргетным и иммуноонкологическим препаратам, системная химиотерапия по-прежнему является основой лечения немелкоклеточного рака легкого. Тем не менее, химиорезистентность опухоли ограничивает эффективность лечения местнораспространенного рака легкого. Некоторые опухоли легкого по своей природе устойчивы к химиотерапии, и практически во всех случаях, несмотря на первичный ответ опухоли, быстро развивается приобретенная резистентность. Более глубокое понимание молекулярных детерминант чувствительности/резистентности к химиотерапии будет иметь решающее значение в лечении НМРЛ. Разработка прогностических биомаркеров для персонализации химиотерапевтических агентов является перспективной стратегией преодоления химиорезистентности при раке легких [82].

Первыми механизмами устойчивости к конвенциональной химиотерапии при НМРЛ являются изменение или отсутствие мишени для химиопрепарата. Некоторые цитостатики действуют на определенных фазах клеточного цикла («циклоспецифичные»). Например, антиметаболиты в основном активны во время фаз G1 и S, ингибиторы топоизомеразы – во время S фазы, тогда как препараты, действующие на веретено деления, активны только в митотических клетках. Поэтому, в основном химиопрепараты активны при быстро растущих опухолях, в то время как опухоль-иницирующие клетки или стволовые клетки опухоли (которые находятся в состоянии покоя, вне клеточного цикла) в большинстве случаев устойчивых к конвенциональной химиотерапии [43, 115].

Помимо фармакодинамических механизмов резистентности при НМРЛ, устойчивость к химиопрепаратам также можно объяснить фармакокинетическими опухоль-специфичными особенностями, в том числе сниженное поступление или повышенный выброс препаратов через клеточную мембрану, внутриклеточную инактивацию цитостатиков, отсутствие активации или детоксификации [115]. Например, высокая активность детоксификации белка глутатион S-трансферазы (*GSTP1*) обуславливает устойчивость к препаратам платины [110]. Генетические герминальные полиморфизмы генов, влияющих на фермент детоксикации

цитидиндезаминазу, определяют биологическую доступность гемцитабина как в опухоли печени, так и в других опухолях, в том числе раке легкого [39].

Характеристики раковых клеток также могут играть значительную роль в устойчивости к лекарственным препаратам при раке легкого. Они включают повышенную способность восстанавливать повреждения ДНК [180], повышенную экспрессию сигнальных путей выживания (например, гиперэкспрессия *HER2* или активация *PI3K/AKT* пути) [33, 147], а также изменение сигнальных каскадов повреждения ДНК или апоптоза (например, потеря функции *Chk1* или *Chk2*, или вмешательства в процесс активации каспаз) [59, 118].

Фенотип множественной лекарственной устойчивости связывают с функционированием продуктов генов семейства ABC-транспортеров (ATP-Binding Cassette), их работу считают мажорным механизмом лекарственной устойчивости [8, 82].

В целом, при немелкоклеточном раке легкого были изучены многие биомаркеры химиочувствительности или резистентности, в том числе транспортеры препаратов, мишени и связанные с ними белки, вместе с элементами, участвующими в метаболических процессах детоксикации, способности репарации ДНК, регулировании клеточного цикла, апоптотических сигналов, и связанными с ними транскрипционными факторами [154]. Тем не менее, лишь немногие биомаркеры являются потенциальными для клинического внедрения. Важное значение в формировании устойчивости играют гены монорезистентности, экспрессия которых 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 (рисунок 1).

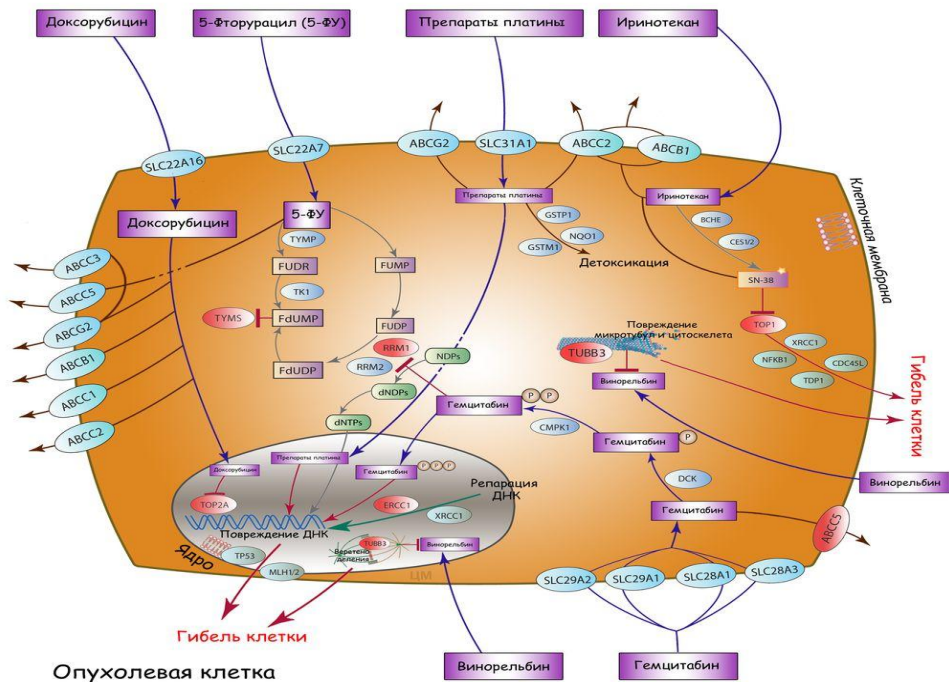


Рисунок 1 – Фармакокинетика препаратов платины, винорелбина, гемцитабина, иринотекана, доксорубицина (по материалам сайта по фармакогеномике (<https://www.pharmgkb.org/index.jsp>))

При лечении НМРЛ с использованием НАХТ начальный уровень экспрессии данных генов в опухоли легкого, как и многие другие факторы прогноза, слабо или вообще не сопряжены с показателями выживаемости [53]. Это можно объяснить проведением 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 и при прогнозе исхода заболевания. Jakobsen J.N. в 2012 году было показано, что неоадъювантное 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

НАХТ вызывает изменение мутационного спектра в гене *EGFR* и, как следствие, неправильную интерпретацию статуса данного маркера [76]. Более поздние исследования этих же авторов показали, что в процессе НАХТ происходит изменения статуса Ki-67 в 83% случаях [74].

1.4.2 Препараты платины и предикторы для их назначения

Платиновые соединения нарушают синтез ДНК путем внутри- и межнитевых сшивок ДНК, а также связывания с клеточными мембранами, тем самым нарушая репликацию и транскрипцию ДНК, что в конечном итоге приводит к гибели клетки [10].

После того, как платиновые препараты проникают в клетку, они должны образовывать аддукты ДНК, которые вызывают каскад сигнальных путей трансдукции, приводя к активации p53-зависимой и p53-независимой клеточной гибели [148]. Эксцизионная репарация нуклеотидов (NER) является основным путем для репарации платинового аддукта. Ген *ERCC1* представляет собой частый однонуклеотидный полиморфизм (SNP) в третьем положении кодона 118 (rs11615, AAC / AAT). *ERCC1* белок участвует в NER-пути и его экспрессия коррелирует с чувствительностью к препаратам платины в лечении НМРЛ [159], в то же время экспрессия *ERCC1* in vitro не коррелирует с чувствительностью НМРЛ к паклитакселу, винорелбину, этопозиду, иринотекану, 5-фторурацилу и гемцитабину [154, 159].

Изучение *ERCC1* в качестве потенциального биомаркера чувствительности к препаратам платины при НМРЛ получило распространение, когда Olausen К.А. и его коллеги провели крупное исследование влияния экспрессии *ERCC1* на эффективность лечения НМРЛ платиносодержащими схемами адъювантной химиотерапии. Было показано, что эффективность проводимой химиотерапии статистически значимо ($p=0,009$) коррелировала с уровнем экспрессии *ERCC1*: у пациентов с низкой или нулевой экспрессией наблюдался хороший ответ на лечение. Кроме этого, авторы оценили общую выживаемость исследуемых

больных и оказалось, что у пациентов с *ERCC1*-негативными опухолями общая выживаемость достоверно выше, чем в группе без проведения адъювантной химиотерапии (ОР 0,65; 95 % ДИ 0,50 - 0,86; $p=0,002$). При этом в группе *ERCC1*-положительных пациентов выживаемость была ниже (ОР 1,14; 95 % ДИ 0,84 - 1,55; $p=0,40$) [114].

В других исследованиях были получены подобные результаты: медиана безрецидивной выживаемости и/или общей выживаемости была значительно выше у пациентов, чьи опухоли имели низкую (или отрицательную) экспрессию *ERCC1* против высокой (положительной) экспрессии *ERCC1* в опухоли НМРЛ, или была выявлена тенденция к увеличению безрецидивного периода и общей выживаемости [23, 34, 67, 90, 97, 117].

Также были проведены исследования, противоречащие полученным результатам. Например, исследованию III фазы, предназначенному определению оценки влияния мРНК *ERCC1* на ответ опухоли после химиотерапии, не удалось показать корреляцию между экспрессией *ERCC1* и ответом на лечение [29]. Кроме того, Friboulet L. и его коллеги не смогли подтвердить прогностическую значимость ИГХ-экспрессии белка *ERCC1* в двух независимых исследованиях III фазы (JBR.10 и Cancer and Leukemia Group B 9633) [52].

В другом проспективном исследовании *ERCC1* Trial (ET) ставилась задача определить, имеет ли преимущество платиновая химиотерапия по сравнению с платиносодержащей у больных с экспрессией *ERCC1*. В исследование включались больные метастатическим НМРЛ, ранее не получавших химиотерапию, с отсутствием в опухоли драйверных мутаций (*EGFR* и *ALK*). У всех больных производили иммуногистохимическое определение экспрессии *ERCC1* в опухоли с помощью моноклональных антител 8F1. Все пациенты рандомизировались на получение платиновой или бесплатиновой химиотерапии в зависимости от морфологии опухоли. Больные плоскоклеточным раком получали платиновую комбинацию цисплатин/гемцитабин или бесплатиновую комбинацию паклитаксел/гемцитабин. Больные аденокарциномой получали цисплатин/пеметрексед или паклитаксел/пеметрексед соответственно. Всем

больным проводили 6 курсов химиотерапии каждые 3 недели. В исследовании планировалось включить 1272 больных. При проведении промежуточного анализа было достоверно показано, что у больных с плоскоклеточным НМРЛ бесплатиновая комбинация уступает по эффективности платиновой. В этой связи включение больных с плоскоклеточным раком в исследование было остановлено в сентябре 2012 г., медиана продолжительности жизни составила 10,7 и 7,6 месяцев (ОР 1,46, $p=0,02$). В июле 2013 г. набор в исследование был прекращено в связи с отсутствием данных о преимуществе бесплатиновых комбинаций у больных аденокарциномой. Всего в исследование было включено 177 больных с плоскоклеточным раком и 471 больной с аденокарциномой. Отсутствие экспрессии *ERCC1* отмечено у 24 % больных плоскоклеточным раком и у 45 % больных аденокарциномой. При анализе не было отмечено прогностического значения экспрессии *ERCC1*. Прогноз больных с экспрессией *ERCC1* был примерно одинаков в сравнении с больными с отсутствием экспрессии. В группе негативной экспрессии *ERCC1* комбинации с включением цисплатина были одинаково эффективны с бесплатиновыми у больных аденокарциномой и существенно превосходили по эффективности бесплатиновые у больных плоскоклеточным раком. В группе с экспрессией *ERCC1* бесплатиновые комбинации не улучшили результаты стандартных платиновых. Таким образом, предположение, что больные с экспрессией *ERCC1* демонстрируют низкую чувствительность к комбинациям с включением цисплатина, не нашло своего подтверждения [91].

При анализе полученных данных в исследовании Lee S.M. с соавт. нужно акцентировать внимание на некоторых особенностях. Во-первых, имеющиеся в настоящее время антитела к *ERCC1* не имеют адекватной дискриминации для принятия клинических решений в отношении назначения платиносодержащих схем лечения у пациентов с немелкоклеточным раком легкого, которые требуют обнаружения уникальной функциональной изоформы *ERCC1* [52, 123]. Во-вторых, интенсивность дозы химиотерапии, достигнутая в этом исследовании, была ниже, чем в предыдущих аналогичных исследованиях. Следовательно,

относительно низкая интенсивность дозы могла также повлиять на результаты [123].

В совокупности, приведенные исследования поддерживают дальнейшую оценку экспрессии *ERCC1* в качестве предсказательного биомаркера для назначения химиотерапии на основе препаратов платины, однако результаты также свидетельствуют о том, что разработка соответствующего анализа для определения статуса *ERCC1* является предметом интенсивной работы нескольких исследовательских групп по всему миру [100].

1.4.3 Винорелбин и предикторы для его назначения

Винорелбин - амфифильный алкалоид барвинки с высокой активностью при НМРЛ по сравнению с другими лекарственными средствами в той же категории. Он проявляет свою противоопухолевую активность путем связывания тубулина и ингибирует сборку микротрубочек, тем самым предотвращая клеточный митоз [60, 157].

Среди описанных механизмов устойчивости к противотубулиновым агентам повышенная экспрессия класса III β -тубулина (*TUBB3*) представляет особый интерес [144]. В нескольких исследованиях показано, что уровень *TUBB3* (определенный с помощью иммуногистохимии или других методов) может быть как прогностическим, так и предикторным фактором в лечении распространенного НМРЛ. В исследовании Rosell R. высокие уровни мРНК *TUBB3* коррелировали с более плохим исходом у пациентов с распространенным НМРЛ, получавших антитубулиновые агенты [136]. Было также показано, что высокий уровень экспрессии *TUBB3* в опухолевых клетках, оцененный с помощью полуколичественного иммуногистохимического анализа, был связан с более низкой частотой ответа и плохим прогнозом у пациентов с распространенным НМРЛ, получавших химиотерапию на основе винорелбина [145].

Winton T. и соавт. опубликовали результаты рандомизированного исследования адъювантной химиотерапии по схеме винорелбин/цисплатин по сравнению с группой наблюдения при резектабельном НМРЛ IB и II стадии (NCIC JBR.10). В исследование было включено 482 пациентов. В группе адъювантной химиотерапии была статистически значимо выше выживаемость, чем в группе наблюдения (69 % против 54 % за 5 лет; $p=0,002$). Высокая экспрессия *TUBB3* (определялась иммуногистохимически) была признаком плохой безрецидивной выживаемости (ОР 1,52; 95 % ДИ 1,05-2,22; $p=0,03$), аналогичная тенденция наблюдалась и в общей выживаемости (ОР 1,39; 95 % ДИ 0,96-2,01; $p=0,08$). Однако в группе адъювантной химиотерапии ($N = 133$) высокая экспрессия *TUBB3* коррелировала со значительно более благоприятной БРВ (ОР 0,45; 95 % ДИ 0,27-0,75; $p=0,002$) и ОВ (ОР 0,64; 95 % ДИ 0,39-1,04; $p=0,007$) по сравнению с группой наблюдения. Эти результаты показали, что адъювантная химиотерапия может продлить БРВ и ОВ у пациентов с гиперэкспрессией *TUBB3* [172].

В целом, среди проведенных исследований, посвященных связи экспрессии класса III β -тубулина с выживаемостью, нет общего согласия, поэтому требуются дальнейшие проспективные рандомизированные исследования [75].

1.4.4 Таксаны и предикторы для их назначения

Таксановые агенты - дитерпены, производные растений из рода *Taxus* и включают в себя паклитаксел и доцетаксел. Их действие основано на нарушении функции микротрубочек, которые имеют важное значение в процессе деления клеток. Таксаны стабилизируют гуанозиндифосфонат-связанный тубулин в микротрубочках, тем самым ингибируя процесс деления клеток. Таким образом, по существу, таксаны являются митотическими ингибиторами [109, 161].

BRCA1 играет решающую роль в репарации повреждений ДНК, контроле транскрипции, регуляции клеточного цикла и апоптоза. Снижение экспрессии мРНК *BRCA1* связано с наследственными и спорадическими раками, например,

раком молочной железы [81, 160]. *BRCA1* уже давно изучен в ретроспективных и проспективных исследованиях, результаты которых предлагают использовать его в качестве потенциального биомаркера при НМРЛ [135, 160].

Пациенты, опухоли которых имели высокую экспрессию *BRCA1*, имели значительно худшую выживаемость и, следовательно, должны быть кандидатами для проведения адъювантной химиотерапии [137]. Исследования *in vitro* показали, что *BRCA1* может регулировать дифференциальную чувствительность к различным классам химиотерапевтических агентов [125]. Отсутствие экспрессии *BRCA1* приводит к высокой чувствительности к цисплатину, тогда как его присутствие повышает чувствительность к антимицротрубочковым агентам [125]. Rosell R. с соавт. провели экспериментальное исследование персонализированной адъювантной химиотерапии на основе уровней мРНК *BRCA1* у 88 пациентов с НМРЛ II-IIIА, перенесших радикальное хирургическое вмешательство. Больные с наивысшим уровнем экспрессии *BRCA1* получали адъювантную химиотерапию доцетакселом, а у пациентов с более низким уровнем *BRCA1* проводилась химиотерапия на основе цисплатина. Анализ результатов показал, что безрецидивная выживаемость была одинакова в обеих группах [137]. Эти результаты подтверждают данные исследования Taron M. с соавт., в котором пациенты II-III стадии НМРЛ получали неoadъювантную химиотерапию гемцитабин/цисплатин, при этом у пациентов с высоким уровнем экспрессии *BRCA1* наблюдалась низкая выживаемость в 12 месяцев [160].

Таксан-устойчивые клеточные линии НМРЛ имели значительно повышенную экспрессию класса III β -тубулина [80, 86, 164]. Те пациенты, у которых опухоли экспрессируют низкие уровни класса III β -тубулина имеют лучший ответ, длительное время без прогрессирования и общую выживаемость. Тем не менее, эта зависимость не была предиктором у больных, получающих схемы лечения без тубулин-связывающих агентов [146].

Помимо уровня экспрессии β -тубулина, мутации в гене β -тубулина могут также предсказать ответ на терапию таксанами. Мутации β -тубулина в экзонах 1 или 4 были обнаружены у 33% пациентов с немелкоклеточным раком легких, и ни

один из этих пациентов не имел объективный ответ на лечение паклитакселом [108]. В целом, имеющиеся данные свидетельствуют о том, что повышенная экспрессия и мутации в классе III β -тубулина могут предсказать устойчивость к таксанам при раке легкого.

1.4.5 Гемцитабин и предикторы для его назначения

Гемцитабин является аналогом дезоксицитидина, который после прохождения через нуклеозидные транспортеры претерпевает сложное внутриклеточное преобразование в гемцитабина дифосфат и трифосфат, оказывающие цитотоксический эффект [106].

Гемцитабин ингибирует рибонуклеотид-редуктазу (*RR*) класса IA – главный фермент биосинтеза дезоксирибонуклеотидов. *RR* аллостерически регулируется АТФ (активатор) и дАТФ (ингибитор) для поддержания баланса между рибонуклеозидтрифосфатами (НТФ) и дезоксинуклеозидтрифосфатами (дНТФ) в клетке, в результате чего осуществляется защита от токсичных и мутагенных эффектов, которые могут возникнуть в результате гиперпродукции дНТФ [37]. *RR* является большим олигомером, состоящий из каталитической субъединицы *RRM1* и одной из двух регулятивных субъединиц: *RRM2* или *p53R2* [168, 174].

RRM1 способствует синтезу дНТФ, строительного материала, необходимого для репарации ДНК. Высокий уровень экспрессии *RRM1* ассоциируется с увеличенной репарацией поврежденной ДНК и наоборот [55]. Отмечено, что экспрессия *RRM1* и *RRM2* связана с устойчивостью к гемцитабину в клеточных линиях, хотя большинство исследований были сосредоточены только на исследовании *RRM1* [56, 152]. Связь высокой экспрессии *RRM1* с резистентностью к гемцитабину впервые была ретроспективно изучена у 67 больных IIВ-IIIВ стадии немелкоклеточного рака легкого в неoadьювантном лечении [133]. Полученные данные были подтверждены в нескольких ретроспективных исследованиях при метастатическом раке легкого, с

использованием дублетов на основе платины [25, 47, 132], либо неплатиновые схемы химиотерапии, например, гемцитабин/пеметрексед [26].

В исследование Simon G. были включены больные III-IV стадией НМРЛ, которые были распределены на 4 группы в зависимости от уровней экспрессии генов *RRM1* и *ERCC1*: низкая экспрессия *RRM1* и *ERCC1* (назначался гемцитабин и карбоплатин), низкая экспрессия *RRM1* и высокая экспрессия *ERCC1* (назначался гемцитабин и доцетаксел), высокая экспрессия *RRM1* и низкая экспрессия *ERCC1* (больные получали доцетаксел и карбоплатин) и высокая экспрессия *RRM1* и *ERCC1* (назначался доцетаксел и винорелбин). Полученные данные показали, что лечение пациентов с распространенными стадиями НМРЛ на основе внутриопухолевой экспрессии *RRM1* и *ERCC1* приводит к перспективному результату лечения с частотой ответа 44 %, выживаемостью в течение 1 года 59 % и медианой общей выживаемости 13,3 месяца [149].

Подобное исследование III фазы представил Verpler G. et al. в 2013 году, в котором изучены результаты лечения 275 пациентов с распространенным НМРЛ. Сравнивая группу пациентов, получавших гемцитабин/карбоплатин, с группами химиотерапии, основанными на экспрессии *ERCC1* и *RRM1*, не было выявлено статистически значимой разницы в выживаемости без прогрессирования (6,1 месяца против 6,9 месяцев) и общей выживаемости (11,0 месяцев против 11,3 месяцев) [27]. Однако при анализе подмножества данных показано, что пациенты с низкими уровнями *ERCC1* и *RRM1*, которые получали одинаковое лечение в обеих группах, имели лучшую БРВ в контрольной группе (8,1 месяцев) по сравнению с экспериментальной группой (5,0 месяцев) ($p=0,02$).

Некоторые исследования подтвердили возможность проспективного анализа *RRM1*-статуса с помощью методов на основе антител [28, 111] или анализа SNP [102], что определяет *RRM1* в качестве наиболее надежного и перспективного биомаркера для эффективности гемцитабина.

Дополнительной мишенью цитотоксичности гемцитабина является тимидилатсинтаза (*TYMS*), которая ингибируется дифтордезоксиридином монофосфатом (*dFdUMP*). Ингибирование *TYMS* приводит к повреждению ДНК.

Таким образом, избыточная экспрессия *TYMS* приводит к устойчивости к гемцитабину в клетках НМРЛ [151].

Некоторые члены семейства АВС-транспортёров, такие как *ABCC5*, обуславливают лекарственную устойчивость к противоопухолевым агентам и их метаболитам. Гиперэкспрессия *ABCC5* связана с оттоком гемцитабина из опухолевой клетки, таким образом, является определяющей для чувствительности гемцитабина в НМРЛ, при этом экспрессия *ABCC5* увеличивается в нормальной ткани и в ткани опухоли лёгкого после лечения препаратами платины [64, 112].

1.4.6 Доксорубин и предикторы для его назначения

Доксорубин воздействует на фермент группы топоизомераз — топоизомеразу IIα (*TOP2α*) [10, 167]. Данный фермент работает в ядре клетки, разрезая нить ДНК при раскручивании во время транскрипции, кроме того, фермент катализирует раскрутку суперспиралей ДНК, разрыв и сшивку молекул нуклеиновой кислоты [87]. Основной мишенью доксорубина является ядерная ДНК. При прямом действии доксорубина происходит образование одиночных и двойных разрывов ДНК. Воздействие на *TOP2α* вызывает его ингибирование и невозможность клетки репарировать повреждённые участки ядерной ДНК, в результате чего происходит запуск апоптоза и некроза опухолевой клетки [17, 94, 166].

Большинство работ по изучению ингибиторов топоизомеразы II происходят от исследований, проводимых в области рака молочной железы и относятся к чувствительности к антрациклинам.

Yan S. с соавт. [176] исследовали прогностическую роль экспрессии уровня *TOP2α* (определяемую иммуногистохимически) у пациентов с НМРЛ I-III стадии, которым выполнено оперативное вмешательство и назначена адъювантная химиотерапия. Гиперэкспрессия *TOP2α* была выявлена у 22,5 % из 151 пациента соответственно. Авторы пришли к выводу о корреляции гиперэкспрессии *TOP2α* с лучшей БРВ.

В клеточных линиях НМРЛ с лекарственной устойчивостью к доксорубину часто были снижены уровни *TOP2α* мРНК и уровни белка [49]. В исследовании Wang J. наблюдалась отрицательная корреляция между экспрессией *TOP2α* и резистентностью к доксорубину [169].

Несмотря на небольшое количество исследований, посвященных изучению экспрессии *TOP2α* у пациентов с НМРЛ, представляется перспективным использование ингибиторов топоизомеразы II в адъювантном лечении больных раком легкого при высоком уровне экспрессии *TOP2α*, а также в качестве независимого прогностического биомаркера.

1.4.7 Иринотекан и предикторы для назначения

Иринотекан является противоопухолевым препаратом растительного происхождения. Механизм активации данного препарата заключается в его преобразовании в активную форму *SN-38* за счёт работы бутирилхолинэстеразы (BCHE) и карбоксилэстеразы 1 и 2 (CES1/2), основной функцией которых является гидролизация различных ксенобиотиков и эндогенных субстратов [93]. *SN-38* обладает высоким цитотоксическим действием и вызывает нерепарируемые одностранные разрывы ДНК. Мишенью действия препарата является топоизомераза I (*TOP1*) — фермент, участвующий в изменении топологии ДНК и разрезающий нить ДНК для предотвращения её суперспирализации и натяжение при репликации и транскрипции. *SN-38* связывается с комплексом топоизомеразы I — ДНК, стабилизирует и препятствует его диссоциации. Появление такого комплекса ингибирует работу ферментов, обеспечивающих репарацию ДНК — *XRCC1*, *nFkB1*, *TDP1*, *CDC45L*. Образуются нерепарируемые одностранные разрывы, которые определяют гибель опухолевой клетки [19].

В мировой литературе обсуждается вопрос, возможно ли использовать экспрессию *TOP1* для прогнозирования ответа на химиотерапию ингибиторами топоизомеразы I. Многие исследования показывают возможность данного

подхода у пациентов с колоректальным раком [83]. У больных НМРЛ прогностический эффект *TOP1* не изучен в полной мере.

Kanzawa F. [79] и Kubota N. [84] сообщили, что резистентность к иринотекану зависит от накопления *SN-38* и снижения количества и активности *TOP1* в НМРЛ. Работа ABC-транспортера *BCRP/MXR/ABCP*, глюкуронидация *SN-38* и делеция *TOP1* мРНК также участвуют в резистентности к иринотекану [101]. Чувствительность опухолевых клеток к иринотекану связана с внутриклеточной концентрацией *TOP1*. Itomachi H. и соавт. сообщили о значительной корреляции между активностью *TOP1* и ответом на *SN-38* в светлоклеточной карциноме яичника [69]. Подобное исследование было проведено Matsumura T., в котором также выявлена значительная взаимосвязь между активностью *TOP1* и ответом на *SN-38* в клеточных линиях рака легкого [101].

Lu B. с соавт. провели исследование, посвященное корреляции между экспрессией белка *TOP1* и клинико-патологическими характеристиками, а также исходам 115 пациентов резектабельным НМРЛ. Высокая экспрессия *TOP1* была обнаружена у 57 (49,6 %) опухолей. Размер опухоли статистически значимо отличался у пациентов с высокой и низкой экспрессией *TOP1* ($p=0,035$). Пациенты с низкой экспрессией *TOP1* имели значительно более продолжительную общую выживаемость ($p=0,004$). Была продемонстрирована корреляция между экспрессией *TOP1* и ОВ среди пациентов с плоскоклеточной карциномой ($p=0,030$) и у пациентов с I стадией заболевания ($p=0,027$) [98].

РЕЗЮМЕ

Несмотря на улучшение предоперационного стадирования немелкоклеточного рака легкого, совершенствование хирургических методов и послеоперационный уход, применение неoadъювантного и адъювантного вариантов лечения, все еще существуют большие трудности в значимом улучшении выживаемости при местнораспространенном НМРЛ.

Стандартные методы лечения были разработаны, в основном, за счет многоцентровых рандомизированных контролируемых исследований. Однако, поскольку биологическая природа опухолей меняется в зависимости от индивидуального пациента, необходим персонализированный подход для назначения оптимального лечения для каждого больного раком легкого. Ученые сделали огромные усилия, чтобы обнаружить перспективные молекулярные биомаркеры для оценки биологического поведения рака, и эта стратегия должна быть полезной при выборе наиболее подходящего лечения для каждого пациента [68].

Поэтому необходимы новые подходы для индивидуализации лечения путем отбора подгрупп пациентов, которые получают пользу от той или иной схемы химиотерапии. Изучение молекулярных факторов, влияющих на чувствительность к лекарственным средствам является потенциально перспективным подходом к снижению токсичности и затрат на лечение, избегая проведение неэффективной лекарственной терапии пациентам.

Существенная роль в формировании резистентности или чувствительности опухолевых клеток к отдельным химиопрепаратам принадлежит генам монорезистентности, поэтому перспективным является интеграция данных молекулярных биомаркеров в процесс принятия клинических решений.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе проанализированы результаты лечения 62 больных немелкоклеточным раком легкого III стадии за период с 2010 по 2016 годы, находившихся на лечении в торакоабдоминальном отделении онкологической клиники Томского НИМЦ.

2.1 Общая характеристика клинического материала

В исследование были включены больные с немелкоклеточным раком легкого III стадии, у которых соматическое состояние позволило провести комбинированное лечение (по шкале ECOG-ВОЗ 0-1). Исследование проходило в соответствии с Хельсинкской Декларацией 1964 г. (исправленной в 1975 и 1983 гг.) и с разрешения локального этического комитета НИИ онкологии Томского НИМЦ, все пациенты подписали информированное согласие на исследование.

Диагноз немелкоклеточного рака легкого устанавливался на основании данных клинического обследования, цитологического исследования мокроты, рентгенографии легких в стандартных проекциях, спиральной компьютерной томографии органов грудной полости с внутривенным болюсным контрастированием, видеобронхоскопии, эндоскопической ультрасонографии с тонкоигольной пункционной биопсией, трансторакальной пункционной биопсии периферической опухоли (под контролем рентгеноскопии, УЗИ или СКТ с целью морфологического исследования материала); ультразвукового исследования органов брюшной полости, забрюшинного пространства и надключичных лимфоузлов. Всем больным выполнено исследование функции внешнего дыхания, сердечно-сосудистой системы (ЭКГ, доплерэхокардиография). По показаниям выполнялись остеосцинтиграфия и магнитно-резонансная томография головного мозга с внутривенным болюсным контрастированием, УЗИ вен нижних конечностей.

Компьютерно-томографическое исследование проводилось на томографе

«Somatom Emotion 6» фирмы «Siemens» (Германия) в режиме спирального сканирования с толщиной среза 1-2,5 мм, pitch - 1,5. Для более четкой визуализации изображения сосудистых структур легкого исследование выполнялось в условиях болюсного контрастного усиления изображения путем внутривенного введения 100 мл омнипака-350 со скоростью 3 мл/с. Видеобронхоскопия проводилась с помощью эндоскопических комплексов EVIS EXERA II и LUCERA фирмы «Olympus» (Япония). Спиральная компьютерная томография и видеобронхоскопия выполнялись до проведения неoadьювантной химиотерапии и в дальнейшем при оценке эффекта.

Лечение начиналось после полного обследования пациента и морфологической верификации диагноза.

Всем пациентам проводилось 2 курса предоперационной химиотерапии по схеме винорелбин/карбоплатин и радикальное хирургическое вмешательство. Далее больные были распределены на две группы. Основную группу составил 31 пациент, которым после операции проведено 3 курса персонализированной адьювантной химиотерапии, назначенной на основании уровней экспрессии генов *ABCC5*, *RRM1*, *ERCC1*, *BRCA1*, *TOP1*, *TOP2 α* , *TUBB3* и *TYMS* в виде карбоплатин-содержащих дублетов со следующими химиопрепаратами: винорелбин, гемцитабин, иринотекан, доксорубин, паклитаксел. Контрольную группу составил 31 пациент, которым послеоперационная химиотерапия проводилась по схеме винорелбин/карбоплатин.

В основной группе мужчин было 28 (90,3 %), женщин - 3 (9,7 %). Соотношение по полу составило 9,3:1, что соответствует показателям заболеваемости раком легкого у мужчин и женщин. В контрольной группе мужчин было 26 (83,9 %), женщин - 5 (16,1 %). Соотношение по полу составило 5,2:1. Отличия больных в сравниваемых по полу оказались статистически не значимыми ($p=0,707$).

В обеих группах большая часть больных относилась к возрастным группам более 50 лет, средний возраст больных составил 58,1 лет (95 % ДИ 56,6-59,5 лет).

Возрастной состав пациентов в основной группе варьировал от 41 года до 69 лет, средний возраст составил 58,7 лет (95 % ДИ 56,5-60,8 лет). Трое больных (9,6 %) находились в возрастной группе 40-49 лет. В возрастной группе 50-59 лет и 60-69 лет зарегистрировано по 14 (45,2 %) больных. Доля работоспособных больных (от 40-59 лет) составила 54,8 %.

В контрольной группе возрастной состав пациентов от 46 лет до 69 лет, средний возраст составил 57,5 лет (95 % ДИ 55,6-59,5 лет). Преобладали больные в возрасте 50-59 лет – 17 (54,8 %), 60-69 лет – 11 (35,5 %). Наименьшее число пациентов было в возрасте 40-49 лет – 3 (9,7 %). Доля работоспособных больных (от 40-59 лет) составила большую часть пролеченных – 64,5 %.

Разность в среднем возрасте составила 1,13 лет (95 % ДИ от -1,81 до 4,07). Отличия больных в сравниваемых группах по возрасту оказались статистически не значимыми ($T=0,767$, $p=0,446$).

В исследуемой и контрольной группах преобладали центральные клиничко-анатомические формы роста рака легкого. В основной группе у 20 больных (64,5 %) установлен центральный рак легкого, в 11 случаях (35,5 %) – периферический. В группе контроля наблюдались 18 больных (58,1 %) с центральным раком легкого и 13 (41,9 %) – с периферическим. Отличия больных в сравниваемых группах оказались статистически не значимыми ($\chi^2=0,272$, $p=0,607$).

Более чем у половины пациентов обеих групп опухоль поражала верхнюю долю (58,1 %): в основной группе – у 15 больных (48,4 %), в контрольной группе – у 21 больного (67,7 %). Нижняя доля была поражена патологическим процессом в основной группе в 35,5 % случаях (11 больных), в группе контроля – в 16,1 % (5 больных). Несколько реже опухоль исходила из средней доли – у 4 (12,9 %) и 3 (9,7 %) пациентов основной и контрольной групп соответственно. У 1 пациента (3,2 %) основной группы и у 2 больных (6,5 %) группы контроля имело место поражение главного бронха. Отличия больных в сравниваемых группах оказались статистически не значимыми ($F=3,783$, $p=0,331$).

Несколько чаще отмечено поражение правого легкого в сравнении с левым (58,1 % и 41,9 % соответственно). Так, в основной группе рак правого легкого выявлен у 19 больных (61,3 %), левого – у 12 больных (38,7 %). В контрольной группе правое легкое было поражено у 17 пациентов (54,8 %), левое – у 14 пациентов (45,2 %). Отличия больных в сравниваемых группах оказались статистически не значимыми ($\chi^2=0,265$, $p=0,607$).

В основной группе наиболее распространенной морфологической формой рака легких у больных был плоскоклеточный рак – 26 пациентов (83,9 %), наименьшее распространение имел крупноклеточный рак – 1 больной (3,2 %). Аденокарцинома выявлена в 4 случаях (12,9 %). По степени дифференцировки распределение было следующим: основная часть (18 опухолей) имели умеренную степень дифференцировки (58,0 %), 11 – низкодифференцированный рак (35,5 %) и в 2 случаях – высокодифференцированный (6,5 %) рак.

В контрольной группе также наиболее распространенной морфологической формой рака легких у больных был плоскоклеточный рак – 18 пациентов (58,1 %), наименьшее распространение имели крупноклеточный рак и железисто-плоскоклеточный рак – по 1 больному (3,2 %). Аденокарцинома выявлена в 11 случаях (35,5 %). По степени дифференцировки распределение было следующим: основная часть – 22 (71,0 %) опухолей имели умеренную степень дифференцировки, 8 – низкодифференцированный рак (25,8 %) и в 1 случае – высокодифференцированный (3,2 %) рак.

Отличия по гистологическому строению опухолей в группах больных оказались статистически не значимыми ($F=5,806$, $p=0,057$). Статистически значимых отличий по степени дифференцировки опухолей у больных в сравниваемых группах также отмечено не было ($F=1,980$, $p=0,605$).

Окончательная стадия заболевания устанавливалась в соответствии с классификацией Международной ассоциации по исследованию рака легкого по системе TNM 7-го пересмотра (IASLC, 2009 г.). Все больные имели IIIA стадию НМРЛ. Распределение больных по TNM представлено в таблице 1. Отличия

больных по стадиям заболевания в исследуемых группах оказались статистически не значимыми ($F=3,791$, $p=0,634$).

Таблица 1 – Распределение больных IIIA стадии НМРЛ по системе TNM, абс. ч. (%)

TNM	Количество больных		Всего (n=62)
	Основная группа (n=31)	Контрольная группа (n=31)	
T1N2M0	2 (6,5%)	0	2 (3,2%)
T2N2M0	5 (16,1%)	2 (6,5%)	7 (11,3%)
T3N1M0	17 (54,8%)	19 (61,3%)	36 (58,1%)
T3N2M0	4 (12,9%)	5 (16,1%)	9 (14,5%)
T4N0M0	2 (6,5%)	3 (9,7%)	5 (8,1%)
T4N1M0	1 (3,2%)	2 (6,5%)	3 (4,8%)

Таким образом, состав групп больных по полу, возрасту, локализации процесса, форме роста опухоли, стадии, морфологическому типу и степени дифференцировки опухоли сопоставим, что позволяет провести сравнительный анализ результатов лечения.

2.2 Методика комбинированного и хирургического лечения больных раком легкого

Больным обеих групп на первом этапе комбинированного лечения проводилось 2 курса неoadьювантной химиотерапии по схеме: винорелбин (25 мг/м² в/в капельно в 1-й и 8-й дни) / карбоплатин (AUC 6 в/в капельно во 2-й день). Интервал между курсами химиотерапии составлял 3 недели. Перед каждым курсом химиотерапии (как в пред-, так и в послеоперационном режимах) пациентам выполняли физикальное обследование, проводили оценку

соматического статуса по шкале ECOG-ВОЗ, а также выполняли общеклинические анализы и ЭКГ.

Вторым и основным этапом проводимого лечения в обеих группах являлось хирургическое лечение. Операции выполнялись из переднебокового или бокового торакотомного доступа. Во всех случаях выполнялась систематическая ипсилатеральная медиастинальная лимфодиссекция. Элементы корня легкого обрабатывались и прошивались отдельно.

Пневмонэктомии выполнены 20 больным (32,3 %), а резекции легких в объеме лобэктомий – 36 больным (58,1 %), билобэктомий – 6 пациентам (9,7 %). Объем оперативных вмешательств представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Распределение по объему оперативных вмешательств у больных IIIA стадией НМРЛ, абс. ч. (%)

		Характер операции			Всего (n=62)
		лобэктомия	пульмонэктомия	билобэктомия	
Группа	Основная (n=31)	20 (64,5%)	6 (19,4%)	5 (16,1%)	31 (100,0%)
	Контроль (n=31)	16 (51,6%)	14 (45,2%)	1 (3,2%)	31 (100,0%)
Всего		36 (58,1%)	20 (32,3%)	6 (9,7%)	62 (100,0%)

При этом в основной группе комбинированные и реконструктивно-пластические вмешательства выполнены 10 пациентам (32,3 %), а в контрольной группе – 5 пациентам (16,1 %). В основном, имели место операции сосудисто-предсердного и трахеобронхопищеводного типа.

Различия по объемам операций в группах больных оказались на уровне статистической тенденции ($F=6,078$, $p=0,056$), что связано с большим количеством органосохранных операций с реконструктивно-пластическим компонентом в основной группе по сравнению с группой контроля.

Сразу после удаления легкого с опухолью производился забор материала (нормальная ткань легких и опухолевая ткань) для молекулярно-генетического исследования с целью определения уровней экспрессии генов монорезистентности.

Через 3–4 недели после хирургического вмешательства больным обеих групп проводилось 3 курса химиотерапии с интервалом в 3 недели. Больным основной группы адъювантная химиотерапия проводилась на основе комбинации двух противоопухолевых препаратов (карбоплатин, винорелбин, паклитаксел, гемцитабин, иринотекан, доксорубицин) в зависимости от разработанного нами алгоритма выбора персонализированной химиотерапии на основании градации уровней экспрессии генов монорезистентности, представленных в таблице 3 (методика определения генов и последовательность разработанных праймеров представлена в пункте 2.3).

Таблица 3 – Градации уровня экспрессии генов монорезистентности для персонализированного выбора схемы химиотерапии

Препарат	Уровень экспрессии гена – показание к назначению препарата
Карбоплатин	<i>Уровень экспрессии гена ERCC1:</i> менее 0,5 - Карбоплатин показан; 0,5-1 – назначение Карбоплатина не определено; более 1 – Карбоплатин не показан
Карбоплатин или Паклитаксел	<i>Уровень экспрессии гена BRCA1</i> менее 1, показан Карбоплатин; более 1,5 – показан Паклитаксел
Гемцитабин	<i>Уровень экспрессии гена RRM1:</i> менее 1 – Гемцитабин показан, 1-2 – назначение Гемцитабина не определено, более 2 – Гемцитабин не показан
	<i>Уровень экспрессии гена ABC5:</i> менее 0,5 – Гемцитабин показан, 0,5-1 – назначение Гемцитабина не определено, более 1 – Гемцитабин не показан
	<i>Уровень экспрессии гена TYMS:</i> менее 1 – Гемцитабин показан, 1-1,5 - назначение Гемцитабина не определено, более 1,5 – Гемцитабин не показан
Доксорубицин	<i>Уровень экспрессии гена TOP2a:</i> менее 2 – Доксорубицин не показан, 2-4 – назначение Доксорубицина не определено, более 4 – Доксорубицин показан

Винорелбин	<i>Уровень экспрессии гена TUBB3:</i> менее 0,6 – Винорелбин не показан, 0,6-1,5 – назначение Винорелбина показано, более 1,5 – Винорелбин не показан
Иринотекан	<i>Уровень экспрессии гена TOP1:</i> менее 1 – Иринотекан не показан, 1-2 – назначение Иринотекана не определено, более 2 – Иринотекан показан

В соответствии с уровнем экспрессии генов монорезистентности назначались дублиеты из следующих химиопрепаратов: винорелбин 25 мг/м² (1-й, 8-й дни), карбоплатин АUC 6 (в 1-й день), гемцитабин 1250 мг/м² (1-й, 8-й дни), иринотекан 60 мг/м² (1-й, 8-й дни), доксорубицин 50 мг/м² (1-й день), паклитаксел 175 мг/м² (1-й день).

Больным контрольной группы курсы послеоперационной химиотерапии проводились по схеме винорелбин (25 мг/м² в/в в 1-й и 8-й дни) / карбоплатин (АUC 6 в/в во 2-й день).

2.3 Методика выделения РНК и количественная полимеразная цепная реакция

Материалом для исследования служила нормальная ткань легких и опухолевая ткань, которые забирались во время оперативного вмешательства после курсов НАХТ. Образцы ткани (~60–70 мм³) помещали в раствор RNeasy lysis buffer (Qiagen, USA) и сохраняли при температуре –80 °С (после 24-часовой инкубации при +4 °С) для дальнейшего выделения РНК. Тотальную РНК выделяли с помощью набора RNeasy mini kit Plus, содержащего ДНК-азу I (Qiagen, Germany) с добавлением в раствор РНК ингибитора РНК-аз RiboLock™ (Fermentas, Lithuania). RIN составил 6,6–8,0, определялся при помощи системы капиллярного электрофореза TapeStation (Agilent Technologies, USA). Концентрацию и чистоту выделения РНК оценивали на спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, USA) (концентрация РНК составила 75–210 нг/мкл, A260/A280=1,85–2,15; A260/A230=1,80–2,22). Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора RevertAid™ (Fermentas, Lithuania) со случайными гексануклеотидами.

Уровень экспрессии генов *ABCC5*, *BRCA1*, *ERCC1*, *RRM1*, *TOP1*, *TOP2α*, *TUBB3*, *TYMS* 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 ставится 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 включает 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. Праймеры и зонды (FAM-BHQ1) представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Последовательность праймеров и проб исследуемых генов

Гены	Ампликон	Последовательность	Дизайн
<i>ABCC5</i> NM_005688.2	76 bp	F 5'-caagaggggtaaactggttggga-3'	ОД
		R 5'-ctaaaatggctgaaatgagagag-3'	
		Probe 5'-ggcagtggtggaagtggaaaa-3'	
<i>BRCA1</i> NM 007294.3 NM 007298.3 NM 007297.3 NM 007300.3	107 bp	F 5'- acagctgtgtggtgcttctgtg -3'	ОД
		R 5'- cattgtcctctgtccaggcatc -3'	
		Probe 5'- catcattcacccttggcacaggtgt -3'	
<i>ERCC1</i> XM_005258638.1 Все транскрипты	121 bp	F 5'- ggcgacgtaattcccgaacta -3'	ОД
		R 5'- agttcttccccaggctctgc -3'	
		Probe 5'- accacaacctgcaccagactacatcca -3'	
<i>GAPDH</i> NM_002046.3	124 bp	F 5'-gccagccgagccacatc-3'	ОД
		R 5'-ggcaacaatatccactttaccaga-3'	
		Probe 5'-cgcccaatacgaaccaaatccg-3'	
<i>RRM1</i> NM_001033.3	94 bp	F 5'- actaagcaccctgactatgctatcc -3'	ОД
		R 5'- ctccatcacatcactgaacacattt -3'	
		Probe 5'- cagccaggatcgctgtcttaacttgca -3'	

<i>TOP1</i> NM_003286.2	97 bp	F 5'-ggcgagtgaatctaaggataatgaa -3'	ОД
		R 5'- tggatatcttaaagggtacagcgaa -3'	
		Probe 5'-accattttcccatcatcctttgttctgagc -3'	
<i>TOP2α</i> NM_001067.3	75 bp	F 5'-agtcgctttcagggttcttgag-3'	ОД
		R 5'-tttcatttacaggetgcaatgg-3'	
		Probe 5'-cccttcacgaccgtcaccatgga-3'	
<i>TUBB3</i> NM_006086.3	71 bp	F 5'-gggccaagtctctgggaagtc-3'	ОД
		R 5'-cgagtcgccacgtagttg-3'	
		Probe 5'-atgagcatggcatcgaccccagc-3'	
<i>TYMS</i> NM_001071.2	91 bp	F 5' -tctggaagggtgttttga- 3'	ОД
		R 5'-tcccagatttcactccctt-3'	
		Probe 5'-tcttagcatttggatcccttga-3'	
Примечание: все пробы – FAM →BHQ1; NM – номер последовательности РНК в NCBI Nucleotide Database (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide); bp – пары оснований; F – прямой праймер; R – обратный праймер; ОД – оригинальный дизайн.			

В качестве гена-рефери используется ген «домашнего хозяйства» фермента *GAPDH* (glyceraldehydes-3-phosphatedehydrogenase), уровень экспрессии каждого целевого гена нормализуется по отношению к экспрессии гена-рефери.

Относительная экспрессия генов монорезистентности оценивалась с помощью метода Pfaffl и следующая формула используется для того, чтобы определить отношение экспрессии между образцом и калибратором:

$$\text{Ratio} = \frac{(E_{\text{target}})^{\Delta C_{t, \text{target}}(\text{calibrator} - \text{test})}}{(E_{\text{ref}})^{\Delta C_{t, \text{ref}}(\text{calibrator} - \text{test})}},$$

где E – эффективность реакции, C_t пороговый цикл генов мишеней (target) и гена-рефери(ref). $\Delta C_{t, \text{target}}(\text{calibrator} - \text{test}) = C_{t, \text{target}}(\text{calibrator}) - C_{t, \text{target}}(\text{test})$; $\Delta C_{t, \text{ref}}(\text{calibrator} - \text{test}) = C_{t, \text{ref}}(\text{calibrator}) - C_{t, \text{ref}}(\text{test})$. В качестве калибратора используется РНК из нормальной ткани легкого. Таким образом, в качестве результата использовалось различие в экспрессии генов относительно *GAPDH* и нормальной ткани легкого.

2.4 Оценка результатов комбинированного лечения

Для оценки непосредственного ответа опухоли на предоперационную химиотерапию по схеме винорелбин/карбоплатин больных обеих групп использовались стандартные критерии RECIST 1.1 (Response Evaluation Criteria in Solid Tumours) на основании данных СКТ ОГК и видеобронхоскопии [119]. Для опухолей, которые можно было измерить в одном направлении, полная регрессия определялась как полное исчезновение всех основных очагов; частичная регрессия - как уменьшение суммы диаметров основных очагов не менее чем на 30 %; прогрессирование процесса – как увеличение на 20 % и более суммы диаметров основных очагов, которая в абсолютном выражении составляет не менее 5 мм, появление одного или нескольких новых очагов. Стабилизация заболевания определялась как несоответствие критериям полной или частичной регрессии при отсутствии прогрессирования.

В случае достижения клинического объективного эффекта (полные и частичные регрессии) и при стабилизации процесса проводилось радикальное хирургическое вмешательство с последующей послеоперационной химиотерапией в количестве 3 циклов.

Материалом для патоморфологического исследования послужили опухолевая ткань и регионарные лимфоузлы, полученные при оперативном лечении рака легкого и заключенные в парафиновые блоки. Материал фиксировался в 10 % растворе нейтрального формалина. Проводка и изготовление гистологических препаратов осуществлялись по стандартной методике. Препараты окрашивались гематоксилином и эозином и подвергались световой микроскопии. Иммуногистохимическое исследование проводилось по стандартной методике [85].

Патоморфологические изменения в опухолевой ткани после предоперационной химиотерапии являются более объективным критерием ответа опухоли на лечение, нежели оценка по шкале RECIST. В оценке лечебного патоморфоза (ЛП) использовалась схема Г.А. Лавниковой, основанная на учете

изменения общей структуры опухоли на тканевом (соотношение строма/паренхима, структурная атипия) и клеточном уровне (степень дистрофии и полиморфизма клеток, митотическая активность). Данная классификация выделяет 4 степени ЛП: I степень – более 50 % опухолевой паренхимы сохранено; II степень – сохранено 20–50 % опухолевой паренхимы; III степень – до 20 % паренхимы опухоли сохранилось в виде отдельных очагов; IV степень – полное отсутствие опухолевой паренхимы [6].

Течение послеоперационного периода и послеоперационные осложнения оценивались в соответствии с классификацией ТММ (Thoracic Morbidity and Mortality System) [70, 139].

Осложнения в процессе периоперационной химиотерапии оценивались с помощью стандартных критериев СТСАЕ v4.03, 2010 г. (https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf)

Наблюдение за больными после окончания лечения и выписки из стационара проводилось регулярно путем контрольного обследования на первом году через каждые три месяца, в дальнейшем один раз в шесть месяцев. При контрольном обследовании выполнялись: общеклиническое обследование, рентгенография органов грудной клетки в 2 проекциях, спиральная компьютерная томография органов грудной и брюшной полости с внутривенным контрастированием (по показаниям), видеобронхоскопия, ультразвуковое исследование органов брюшной полости.

Выживаемость больных определялась с помощью динамического (актуариального) метода. Выживаемость рассчитывалась на каждый год после окончания лечения с учетом выбывших из-под наблюдения больных и умерших от сопутствующих неонкологических заболеваний. Продолжительность жизни исчислялась с момента начала лечения.

Сравнительная оценка эффективности комбинированного лечения НМРЛ в обеих группах осуществлялась на основании анализа срока и частоты появления рецидивов и метастазов.

2.5 Статистические методы

В работе использовались стандартные методы описательной, параметрической и непараметрической статистики. Для сравнения групп по возрасту использовались методы параметрической статистики, поскольку распределение признака в группах больных было нормальным, что было установлено с помощью критерия Шапиро-Уилка (в основной группе $p=0,057$, в контрольной группе $p=0,670$). Для проверки гипотезы о значимости различий между исследуемыми группами использовали t-критерий Стьюдента.

Сравнение групп больных по полу, клинико-анатомическим формам, стадиям заболевания, морфологическому строению опухолей и степени дифференцировки проводилось с помощью таблиц сопряженности (критерий χ^2 Пирсона и точный критерий Фишера).

Для проверки гипотезы о значимости различий между уровнями экспрессии генов монорезистентности, основными клинико-морфологическими параметрами, наличием гематогенных метастазов и рецидивов использовали критерий Вилкоксона-Манна-Уитни.

Результаты исследования обрабатывались на персональном компьютере с использованием лицензионной статистической программы «IBM SPSS Statistics» версии 22.0 (IBM corp., США). Для анализа общей и безрецидивной выживаемости использовались кривые выживаемости, построенные по методу Каплана–Майера. Сравнение достоверности различий между группами производилось с помощью Log-Rank test.

Различие считалось достоверным при $p<0,05$, т.е. в тех случаях, когда вероятность различия составляла больше 95 %.

ГЛАВА 3

НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЛЕГКОГО III СТАДИИ

3.1 Эффективность неоадьювантной химиотерапии

Оценка непосредственной эффективности проводимого системного лечения после двух циклов неоадьювантной химиотерапии осуществлялась по результатам СКТ ОГК и видеобронхоскопии. При повторных исследованиях в сравнительном аспекте оценивались размеры первичной опухоли, протяженность опухолевой инфильтрации стенки бронхиального дерева в проксимальном направлении, проходимость бронха в области поражения, степень пневматизации легкого, количество, размеры и плотность лимфатических узлов корня легкого и средостения [2].

После проведения 2 курсов НАХТ в обеих группах наиболее распространенным эффектом явилась стабилизация процесса (39 больных, 62,9 %). У 21 больного (33,9 %) зафиксирована частичная регрессия, и лишь у 2 больных (3,2 %) – полная регрессия опухолевого процесса. Прогрессирования заболевания выявлено не было.

В основной группе частота клинического объективного ответа составила 48,4 % (1 больной с полной регрессией и 14 больных с частичной регрессией процесса). Стабилизация процесса выявлена у 16 больных (51,6 %).

В контрольной группе частота клинического объективного ответа составила всего 25,8 % (1 больной с полной регрессией и 7 больных с частичной регрессией процесса). Стабилизация процесса выявлена у 23 больных (74,2 %).

Отличия больных в сравниваемых группах оказались статистически не значимыми ($\chi^2=3,387$, $p=0,066$).

В основной группе в случаях с полной и частичной регрессией процесса у 15 пациентов (48,4 %) гистологически диагностирован плоскоклеточный рак различной степени дифференцировки. При стабилизации процесса у 11 больных

(35,5 %) был выявлен плоскоклеточный рак, аденокарцинома различной степени дифференцировки - у 4 пациентов (12,9 %), у 1 пациента (3,2 %) - крупноклеточный рак.

В контрольной группе в случаях клинического объективного ответа (полная и частичная регрессия процесса) у 7 пациентов (22,6 %) гистологически диагностирован плоскоклеточный рак различной степени дифференцировки и у 1 пациента (3,2 %) - аденокарцинома (эффект частичной регрессии). При стабилизации процесса у 11 больных (35,5 %) был выявлен плоскоклеточный рак, аденокарцинома различной степени дифференцировки - у 10 пациентов (32,3 %), у 1 - крупноклеточный рак (3,2 %).

3.2 Осложнения неоадьювантной химиотерапии

Пациентам обеих групп всего было проведено 124 курса в неоадьювантном режиме. Статистически не значимых отличий по количеству осложнений в сравниваемых группах не выявлено ($p > 0,05$).

Следует отметить, что до начала лечения у ряда пациентов отмечены отклонения от нормы по результатам общего и биохимического анализов крови. Так, среди 9,7 % пациентов наблюдалась анемия I степени, среди 3,2 % – анемия II степени; у 22,6 % – тромбоцитоз, 1,6 % – тромбоцитопения I степени; у 32,3 % – лейкоцитоз. Уровни билирубина и креатинина были выше нормы у 1,6 % и 8,1 % пациентов соответственно, аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) – у 3,2 % и 4,8 % соответственно.

На фоне проведенной предоперационной химиотерапии наблюдалась тенденция к снижению уровней гемоглобина, тромбоцитов, лейкоцитов и нейтрофилов. Наименьшие уровни гемоглобина и тромбоцитов выявлены через неделю после введения химиопрепаратов, а содержание лейкоцитов и нейтрофилов было минимальным за неделю до проведения очередного курса химиотерапии, то есть через 2 недели после курса химиотерапии.

Непосредственные побочные реакции в виде слабости, гипертермии,

снижения аппетита, тошноты и рвоты отмечались во время инфузии химиопрепаратов или в первые часы после ее окончания. Поздних осложнений зафиксировано не было. Профилактика тошноты и рвоты умеренноэметогенной схемы винорелбин/карбоплатин проводилась согласно практическим рекомендациям RUSSCO [3].

Наиболее распространенным видом токсичности явилась гематологическая, I-II степени выраженности: анемия - 11,3 %, лейкопения - 16,1%, нейтропения - 9,7 % и тромбоцитопения - 11,3 %. Миелосупрессивный эффект реализовался в ближайшие дни после введения химиопрепаратов, в основном на 7–11 день. Фебрильных нейтропений и инфекционных осложнений, связанных с уменьшением количества лейкоцитов, отмечено не было.

Тошнота и рвота I-II степени выраженности отмечались в 11,3 % случаев. Гепатотоксичность (в виде повышения уровней билирубина, АСТ и АЛТ) и нефротоксичность (повышение уровней креатинина и мочевины) отмечались в 9,7 % и 1,6 % наблюдений соответственно. Алопеция при проведении НАХТ по схеме винорелбин/карбоплатин составила 6,5 %. Аллергических реакций выявлено не было.

Осложнения гастроинтестинального и гематологического характера, возникшие при проведении химиотерапии по схеме винорелбин/карбоплатин, носили кратковременный и обратимый характер. Применение колониестимулирующих факторов (Г-КСФ, эритропоэтина) не потребовалось. Препараты железа (пероральные двух- или трехвалентные формы, либо внутривенные инфузии железа карбоксимальтозата) были достаточно эффективными при развитии анемии. При повышении уровня трансаминаз и общего билирубина применялись гепатопротекторы (адеметионин, эссенциальные фосфолипиды и др.). При развитии нефротоксичности назначалась фитотерапия и дезинтоксикационная терапия с положительным эффектом.

Таким образом, применяемая схема неoadьювантной химиотерапии не вызывала тяжелых осложнений и удовлетворительно переносилась больными, что позволило в запланированные сроки провести хирургическое лечение в обеих

группах.

3.3 Течение послеоперационного периода и послеоперационные осложнения

Следующим этапом комбинированного лечения больным обеих групп через 3-4 недели с момента завершения второго курса неoadьювантной химиотерапии при удовлетворительном состоянии больного и купировании осложнений выполнено радикальное хирургическое вмешательство.

Комбинированные операции по поводу рака лёгкого — вмешательства нестандартные, включающие в это понятие множество различных по характеру, объёму, технике выполнения оперативных приёмов [13]. Развитие анестезиологии обеспечило эволюцию хирургического метода, стали возможными резекции лёгких при местнораспространенных формах рака лёгкого.

В периоперационном периоде больным исследуемых групп проводились мероприятия, направленные на купирование воспалительных явлений, улучшение дренажной функции бронхиального дерева и показателей функции внешнего дыхания. Всем пациентам также проводилась коррекция сопутствующей патологии. Выход из наркоза пациентов сравниваемых групп не имел каких-либо существенных отличий. Проводимая в раннем послеоперационном периоде интенсивная терапия существенно не отличалась от принятой стандартной методики ведения послеоперационного периода.

В оценке непосредственных результатов комбинированного лечения больных раком лёгкого главным критерием является характеристика послеоперационных осложнений и летальности.

Вентиляционная функция оставшейся доли лёгкого в обеих группах после лобэктомий, как правило, восстанавливалась сразу.

Структура послеоперационных осложнений в исследуемых группах представлена в таблице 5.

Таблица 5 – Частота и характер послеоперационных осложнений у больных немелкоклеточным раком легкого III стадии в соответствии с классификацией ТММ (Thoracic Morbidity and Mortality), абс. ч. (% от количества осложнений)

Степень осложнений по системе ТММ	Осложнение	Основная группа (n = 31)	Контрольная группа (n = 31)	Всего (n=62)
I	-	-	-	-
II	Фибрилляция предсердий	4 (33,3 %)	3 (30,0 %)	7 (31,8 %)
	Пневмония	3 (25,0 %)	2 (20,0 %)	5 (22,7 %)
	Длительное поступление воздуха по дренажу	1 (8,3 %)	0 (0 %)	1 (4,5 %)
	Несостоятельность культи бронха	0 (0 %)	1 (10,0 %)	1 (4,5 %)
	Нагноение послеоперационной раны	1 (8,3 %)	1 (10,0 %)	2 (9,1 %)
	Анемия 3 степени	1 (8,3 %)	1 (10,0 %)	2 (9,1 %)
IIIа	Эмпиема	1 (8,3 %)	1 (10,0 %)	2 (9,1 %)
	Свернувшийся гемоторакс	0 (0 %)	1 (10,0 %)	1 (4,5 %)
IIIб	Бронхиальный свищ	1 (8,3 %)	0 (0 %)	1 (4,5 %)
IV	-	-	-	-
V	-	-	-	-
Всего осложнений		12 (100 %)	10 (100 %)	22 (100 %)
Всего больных с осложнениями		10 (32,2 %)	9 (29,0 %)	19 (30,6 %)

Осложнения в послеоперационном периоде развились у 19 больных основной и контрольной групп (30,6 %). Различия в количестве осложнений в изучаемых группах статистически недостоверно ($\chi^2=0,015$, $p=1,000$).

Наиболее часто зафиксированы так называемые «малые» осложнения II степени – в 81,8 % случаях, которые были купированы с помощью лекарственной

терапии. Наиболее встречаемым была фибрилляция предсердий, развившаяся, как правило, у больных перенесших пневмонэктомию и имеющих сопутствующую патологию сердца.

Следующим по встречаемости осложнением у больных исследуемых групп была пневмония, развившаяся в 5 случаях (22,7 %). Во всех случаях назначалась антибактериальная терапия в соответствии с чувствительностью к выделенным из мокроты возбудителям. Дополнительно проводилась адекватная дезинтоксикационная, десенсибилизирующая терапия, комплекс лечебно-физкультурных упражнений, регулярные санации трахеобронхиального дерева.

Со стороны послеоперационной раны у 2 больных (9,1 %) основной и контрольной групп отмечено нагноение, которое успешно было ликвидировано с помощью местного лечения. Послеоперационная анемия, требующая трансфузию компонентов крови, развилась у 2 больных обеих групп (9,1 %).

Один случай (4,5 %) свернувшегося гемоторакса у больного в контрольной группе был выявлен после пульмонэктомии справа при СКТ ОГК на 5-е сутки после операции. Локализовался сгусток в заднем диафрагмальном синусе, размеры составляли 4 x 5,5 см. Наблюдалась фрагментация сгустка, однако клинически и лабораторно явления воспалительного характера не отмечались. Признаки гемоторакса купированы внутривидеальным введением фибринолитических препаратов спустя три недели после операции.

У 2 пациентов (9,1 %) основной и контрольной групп с развившейся эмпиемой плевры проводилась активная консервативная терапия, в результате которой явления воспаления были купированы. У 1 пациента основной группы (4,5 %) на 1 сутки послеоперационного периода после пульмонэктомии отмечено активное поступление воздуха по дренажу, диагностирована несостоятельность шва культи главного бронха. Пациент взят в операционную, культя бронха дополнительно ушита отдельными узловыми швами. В дальнейшем послеоперационный период протекал без особенностей. У 1 пациента контрольной группы (4,5 %) с эмпиемой плевры по данным СКТ ОГК выявлены признаки несостоятельности культи бронха (прикультевая полость диаметром 17

мм). Своевременно начатая антибактериальная терапия обеспечила развитие рубцевания и предотвратила формирование бронхиального свища, а прикультевая полость была ликвидирована.

Послеоперационной летальности в обеих группах не было.

Полученные результаты соответствуют литературным данным о частоте послеоперационных осложнений в ведущих пульмонологических клиниках страны и за рубежом и находятся в пределах среднестатистических показателей [139].

3.4 Лечебный патоморфоз при проведении неoadьювантной химиотерапии

После проведенного предоперационного лекарственного лечения лечебный патоморфоз исследован у 62 пациентов (100 %).

В основной группе лечебный патоморфоз IV степени достигнут у 2 (6,5 %) пациентов с центральным плоскоклеточным раком. Патоморфоз III степени отмечен также у 2 (6,5 %) пациентов с центральной плоскоклеточной карциномой. В 17 случаях (54,8 %) отмечен патоморфоз II степени (в 2 случаях – с аденокарциномой и в 15 – при плоскоклеточном раке легкого). Несколько реже отмечен патоморфоз I степени (у 10 пациентов – 32,3 %), при этом в 2 случаях выявлена аденокарцинома, в одном – крупноклеточный рак и в 7 случаях – плоскоклеточный рак различной степени дифференцировки.

В группе контроля лечебный патоморфоз III-IV степени был достигнут несколько чаще в сравнении с основной группой (19,3 %). Патоморфоз IV степени выявлен у 3 (9,7 %) пациентов с центральным раком по клинко-анатомической классификации, причем в 1 случае при плоскоклеточном раке, а в 2 – при аденокарциноме умеренной степени дифференцировки. Патоморфоз III степени отмечен также у 3 (9,7 %) пациентов с периферической локализацией опухоли, по морфологии – в 2 случаях плоскоклеточный рак и в 1 случае – аденокарцинома умеренной степени дифференцировки. Патоморфоз I-II степени

выявлен в 80,6 % (у 25 пациентов). В 16 случаях (51,6 %) отмечен патоморфоз II степени (в 1 случае у пациента с крупноклеточным раком, в 5 случаях с аденокарциномой и в 10 – при плоскоклеточном раке легкого). Несколько реже отмечен патоморфоз I степени - у 9 пациентов – 29,0 % (в 1 случае у больного с железисто-плоскоклеточным раком, в 3 случаях с аденокарциномой и в 5 – при плоскоклеточном раке легкого).

Статистически значимых различий при сравнении двух групп по степени лечебного патоморфоза получено не было ($F=0,643$, $p=1,000$).

При сопоставлении данных об эффективности предоперационной химиотерапии с лечебным патоморфозом в основной группе отмечено, что патоморфозу IV степени соответствовала стабилизация опухоли. У 1 пациента с III степенью лечебного патоморфоза объективный эффект оценен как полная регрессия и у 1 пациента отмечена частичная регрессия опухоли. При I-II степени патоморфоза у 12 пациентов выявлена частичная регрессия опухоли, в 15 случаях - стабилизация.

В контрольной группе лечебному патоморфозу IV степени соответствовали по 1 случаю с полной, частичной регрессией и стабилизацией опухоли. У 2 пациентов с III степенью лечебного патоморфоза объективный эффект оценен как частичная регрессия и у 1 пациента отмечена стабилизация опухоли. При I-II степени патоморфоза у 4 пациентов выявлена частичная регрессия опухоли, в 22 случаях - стабилизация.

В результате оценки эффективности предоперационной химиотерапии по схеме винорелбин/карбоплатин в обеих группах можно говорить о том, что уменьшение размера опухоли не всегда коррелирует с повреждением ее на микроскопическом уровне.

3.5 Экспрессия генов монорезистентности в опухоли больных немелкоклеточным раком легкого после предоперационной химиотерапии

На основании литературных данных о связи экспрессии генов монорезистентности с чувствительностью к системной химиотерапии [29, 37, 64, 93, 137, 151] для нашего исследования были выбраны гены *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2 α* , *TUBB3*, *TYMS* и *ABCC5*, определяющие резистентность к основным химиопрепаратам, применяющихся в лечении НМРЛ. С целью градации уровней экспрессии генов монорезистентности для персонализированного выбора схемы химиотерапии в основной группе, экспрессия указанных генов определялась сначала у больных контрольной группы (n=21) в операционном материале после проведения неoadъювантной химиотерапии методом ПЦР в режиме реального времени. Уровень экспрессии генов *RRM1*, *TYMS*, *BRCA1* и *TOP1* равный 1, принимался за пороговый (соответствующий экспрессии в нормальной ткани легкого). Уровень экспрессии, в 2 раза превышающий пороговый уровень, считался высоким уровнем, а ниже порогового – низким. Промежуточный уровень находился между уровнями 1 и 2. Гены *ERCC1*, *TUBB3* и *ABCC5* являются низкоэкспрессируемыми и для них пороговый уровень определяли иначе: весь уровень экспрессии делился на три части, нижняя треть считалась низкой экспрессией, верхняя треть - высокой экспрессией. Для генов *ERCC1* и *ABCC5* пороговым стал уровень 0,5, для *TUBB3* – 0,6. Для гена *TOP2 α* методика определения была схожей, но пороговый уровень составил 2, поскольку этот ген относился к высокоэкспрессируемым.

Таким образом, нами были определены показания к назначению адъювантной химиотерапии больным основной группы:

- *RRM1* или *TYMS* менее 1,0, *ABCC5* менее 0,5 - назначается гемцитабин;
- *TOP1* более 2 - назначается иринотекан;
- *TUBB3* 0,6-1,5 - назначается винорелбин;
- *TOP2 α* более 4 - назначается доксорубицин;

– *BRCA1* более 1,5 – назначается паклитаксел.

Нами было проведено сравнение средних значений уровней экспрессии генов монорезистентности после проведения предоперационной химиотерапии в исследуемых группах. При этом уровень экспрессии генов был определен у всех больных основной группы (31 пациент), в контрольной группе – у 21 больного (таблица 6). Было выявлено, что в основной группе был статистически значимо выше уровень экспрессии генов *TUBB3* и *BRCA1*.

Таблица 6 – Экспрессия генов монорезистентности в опухолевой ткани легкого после НАХТ у больных исследуемых групп

Ген	Основная группа (n = 31)	Контрольная группа (n = 21)	p-value
<i>RRM1</i>	0,72±0,10	0,33±0,10	0,079
<i>TYMS</i>	1,46±0,44	0,31±0,06	0,081
<i>ABCC5</i>	1,53±0,44	0,99±0,23	0,582
<i>ERCC1</i>	0,32±0,11	0,22±0,04	0,222
<i>TOP1</i>	0,26±0,06	0,75±0,27	0,150
<i>TOP2α</i>	2,53±0,72	1,43±0,68	0,653
<i>TUBB3</i>	4,16±0,88	1,19±0,30	0,004
<i>BRCA1</i>	0,90±0,27	0,25±0,08	0,037

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

Далее была изучена связь экспрессии генов монорезистентности *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2α*, *TUBB3*, *TYMS*, *ABCC5* с основными клинико-морфологическими параметрами у 52 больных (таблица 7).

Таблица 7 – Уровень экспрессии генов монорезистентности в опухоли л от основных клинико-морфологических параметров

Клинико-морфологические параметры		<i>RRM1</i>	<i>TYMS</i>	<i>ABCC5</i>	<i>ERCC1</i>
Возраст	<60	0,79±0,13	1,69±0,61	1,38±0,36	0,26±0,08
	≥60	0,45±0,09	1,26±0,47	1,36±0,66	0,33±0,15
	p-value	0,090	0,495	0,985	0,636
Распространенность опухоли	T ₁₋₂	0,59±0,14	1,13±0,38	1,98±0,74	0,23±0,07
	T ₃₋₄	0,65±0,11	1,64±0,52	1,19±0,37	0,32±0,10
	p-value	0,930	0,821	0,254	0,778
Лимфогенное метастазирование	N ₀₋₁	0,63±0,11	1,42±0,47	1,06±0,39	0,43±0,16
	N ₂	0,64±0,13	1,76±0,84	2,09±0,60	0,35±0,11
	p-value	0,633	0,691	0,003	0,449
Клинико-анатомическая форма	Центральный	0,65±0,12	2,04±0,63	1,22±0,33	0,35±0,13
	Периферический	0,60±0,13	0,69±0,31	1,62±0,70	0,19±0,05
	p-value	0,912	0,070	0,624	0,860
Гистологический тип	Плоскоклеточный	0,67±0,11	1,94±0,55	1,38±0,43	0,26±0,09
	Аденокарцинома	0,45±0,11	0,39±0,13	1,00±0,40	0,39±0,21
	p-value	0,580	0,156	0,810	0,293

Примечания: в таблице представлены средние значения экспрессии генов ± ошибка полужирным выделен статистически значимый уровень

Уровень экспрессии *TOP1* был выше у больных моложе 60 лет в сравнении с пациентами старше 60 лет ($p=0,046$, коэффициент корреляции Спирмена $r=0,279$). При метастатическом поражении лимфоузлов средостения (N_2) был значимо выше уровень экспрессии генов *TOP2 α* и *ABCC5* ($p=0,004$, $r=0,404$ и $p=0,003$, $r=0,417$ соответственно), а при местной распространенности опухоли T_{3-4} был снижен уровень *TOP2 α* ($p=0,005$, $r=0,442$). В отличие от проведенного анализа, авторы других исследований не обнаружили корреляции между экспрессией гена *TOP2 α* с клинико-морфологическими параметрами [8, 170].

Далее в группе с персонализированной АХТ была оценена экспрессия генов монорезистентности в опухолевой ткани после проведения НАХТ у больных с клинически объективным эффектом (частичная регрессия + полная регрессия) и стабилизацией. У больных с частичной регрессией был статистически значимо выше уровень экспрессии гена *RRM1* ($p=0,019$, $r=0,426$) (таблица 8).

Таблица 8 – Экспрессия генов монорезистентности в опухолевой ткани легкого у больных с различным ответом на НАХТ (по RECIST)

Ген	Эффективность НАХТ		
	Полная + частичная регрессия (n = 19)	Стабилизация (n = 33)	p-value
<i>RRM1</i>	0,91±0,16	0,44±0,08	0,009
<i>TYMS</i>	1,19±0,40	1,71±0,61	0,682
<i>ABCC5</i>	0,95±0,21	1,62±0,51	0,682
<i>ERCC1</i>	0,36±0,17	0,25±0,07	0,466
<i>TOP1</i>	0,33±0,11	0,56±0,21	0,682
<i>TOP2α</i>	1,43±0,49	2,01±0,69	0,856
<i>TUBB3</i>	3,26±0,86	2,25±0,79	0,113
<i>BRCA1</i>	0,94±0,30	1,16±0,29	1,000

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

В мировых исследованиях получены противоречивые данные, в частности Dong X. и Verpler G. показали, что при низких значениях экспрессии *RRM1* наблюдалась значимо чаще полная и частичная регрессии процесса в отличие от высокой экспрессии *RRM1* ($p < 0,001$) [26, 47]. Полученные различия могут быть обусловлены разной методологией определения уровня генов монорезистентности.

При оценке уровней экспрессии генов монорезистентности со степенью лечебного патоморфоза в опухоли НМРЛ после проведения НАХТ было выявлено статистически значимое повышение уровня экспрессии *TOP2α* при I-II степени ЛП ($p = 0,048$, $r = 0,401$) (таблица 9).

Таблица 9 – Экспрессия генов монорезистентности в опухолевой ткани легкого у больных в зависимости от степени лечебного патоморфоза (по Лавниковой Г.А.)

Ген	Лечебный патоморфоз		
	I-II степень (n = 44)	III-IV степень (n = 8)	p-value
<i>RRM1</i>	0,56±0,08	1,15±0,39	0,086
<i>TYMS</i>	1,67±0,48	0,72±0,47	0,265
<i>ABCC5</i>	1,49±0,39	0,69±0,23	0,737
<i>ERCC1</i>	0,22±0,06	0,76±0,45	0,428
<i>TOP1</i>	0,51±0,16	0,28±0,13	1,000
<i>TOP2α</i>	2,05±0,55	0,44±0,36	0,048
<i>TUBB3</i>	2,63±0,66	2,52±1,32	0,575
<i>BRCA1</i>	1,29±0,26	0,34±0,05	0,060

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

Таким образом, в результате проведенного исследования было выявлено, что экспрессия исследуемых генов слабо коррелирует с клинико-морфологическими параметрами, эффективностью неoadьювантной химиотерапии и лечебным патоморфозом в опухоли после НАХТ.

3.6 Послеоперационная химиотерапия и оценка токсичности в сравниваемых группах

После хирургического этапа лечения пациентам обеих групп проводилось 3 курса адъювантной химиотерапии.

Больным контрольной группы проводилась послеоперационная химиотерапия по схеме винорелбин/карбоплатин.

В основной группе по данным молекулярно-генетического анализа смена режима адъювантной химиотерапии проведена у 21 больного (67,7 %) – в 16 случаях (51,6 %) на гемцитабин/карбоплатин, в 3 случаях (9,7 %) – паклитаксел/карбоплатин и в 2 случаях (6,5 %) – доксорубицин/карбоплатин. У 10 пациентов (32,3 %) продолжена химиотерапия по схеме винорелбин/карбоплатин.

При сопоставлении данных о смене послеоперационной схемы химиотерапии с лечебным патоморфозом (III-IV степени) после НАХТ отмечено, что в случае лечебного патоморфоза IV степени продолжена АХТ по прежней схеме (винорелбин/карбоплатин). При патоморфозе III степени в 1 случае проведена смена режима химиотерапии на гемцитабин/карбоплатин, и еще в 1 случае продолжена адъювантная химиотерапия по схеме винорелбин/карбоплатин.

Отсутствие аппетита, тошнота и рвота отмечались во время инфузии химиопрепаратов или в первые часы после ее окончания. Профилактика тошноты и рвоты проводилась с помощью антиэметиков (апрепитант, дексаметазон, ингибиторы рецепторов серотонина) с положительным эффектом.

Гематологическая токсичность наблюдалась несколько чаще, чем при проведении предоперационной химиотерапии. Наиболее частым видом гематологической токсичности была анемия легкой и средней степени тяжести – 22,6 %, лейкопения I-II степени – 12,9 %, лейкопения III степени – 4,8 %, нейтропения I-II степени – 9,7 %, нейтропения III степени – 4,8 %.

тромбоцитопения I-II – 11,3 %, тромбоцитопения III степени – 4,8 %. При этом пик падения тромбоцитов приходился на 11—13 сутки, а восстанавливался исходный уровень на 19-21 сутки, лейкоцитов - на 7-12 сутки с нормализацией к 14-19 суткам. Инфекционных осложнений, связанных с уменьшением количества лейкоцитов, отмечено не было. Частота развития негематологической токсичности (преимущественно гастроинтестинальной – 19,3 %, нефротоксичности – 3,2 %, алопеции – 17,7 %) статистически значимо не превышала частоту подобных осложнений при неоадьювантном режиме, а ее выраженность не превосходила II степени. В основной группе наблюдался 1 случай (1,6 %) артралгии на фоне курсов химиотерапии по схеме паклитаксел/карбоплатин, которая была купирована назначением НПВС.

Осложнения, возникшие при проведении адьювантной химиотерапии в обеих группах, носили кратковременный и обратимый характер. При появлении тошноты и рвоты назначались препараты с антиэметическим действием. Колонистимулирующие факторы и другие стимуляторы гранулоцитопоэза, препараты железа были достаточно эффективными и позволили в короткий срок нормализовать основные показатели периферической крови. В случае развития гепатотоксичности применение гепатопротекторов позволило нормализовать биохимические показатели (АСТ, АЛТ, щелочная фосфатаза, билирубин).

В целом, осложнения при проведении послеоперационной химиотерапии встречались несколько чаще осложнений предоперационной химиотерапии, что, по-видимому, связано с увеличением количества курсов, а также со снижением резервных возможностей организма после обширного хирургического вмешательства. Статистически значимых различий в исследуемых группах не выявлено ($p > 0,05$).

3.7 Отдаленные результаты комбинированного лечения больных НМРЛ III стадии

Для анализа отдаленных результатов нами были прослежены исходы

лечения больных исследуемых групп. Первые три года после проведенного лечения для больных раком легкого являются критическим сроком в отношении прогрессирования заболевания. Свыше 60 % местных рецидивов и отдаленных метастазов злокачественного новообразования возникает в этот период [9]. Изучение итогов лечения проводилось по окончательному результату.

Критерии оценки были следующими: жив, умер от основного заболевания, жив с рецидивами и/или отдаленными метастазами, выбыл из-под наблюдения или умер по другой причине.

Результаты лечения прослежены у 62 пациентов исследуемых групп.

Большинство пациентов находились на диспансерном учете в отделении консультативного и госпитального приема онкологической клиники Томского НИМЦ и обследовались после проведенного лечения согласно стандартам. Данные о больных, которые наблюдались в онкологических диспансерах других регионов, получали путем запроса в лечебные учреждения по месту жительства.

Период наблюдения за больными составил от 4 до 76 месяцев.

В основной группе прогрессирование заболевания наблюдалось у 6 (19,4 %) больных. В течение первого года наблюдения прогрессирование заболевания выявлено у двух больных (6,5 %): отдаленные метастазы в плевру с противоположной стороны выявлены у одного больного через 9 месяцев после начала лечения (центральный плоскоклеточный рак T4N0M0); у другого больного выявлено метастатическое поражение лимфоузлов средостения через 11 месяцев после начала лечения (центральный плоскоклеточный рак T2N2M0). Оба больных получали схему АХТ гемцитабин/карбоплатин.

На втором году динамического наблюдения в основной группе прогрессирование выявлено у 3 больных (9,7 %). На сроках 13 и 15 месяцев зарегистрированы случаи метастатического поражения лимфоузлов средостения у двух пациентов, получавших персонализированную послеоперационную химиотерапию по схемам винорелбин/карбоплатин (центральный плоскоклеточный рак T3N1M0) и доксорубин/карбоплатин (периферический крупноклеточный рак T1bN2M0) соответственно. Еще один случай

прогрессирования в виде местного рецидива зафиксирован на 20-м месяце наблюдения у пациента с центральной плоскоклеточной карциномой T3N1M0, получавшего АХТ по схеме паклитаксел/карбоплатин.

На третьем году наблюдения (26 месяцев) в группе с персонализированной химиотерапией зафиксирован один случай (3,2 %) метастатического поражения головного мозга и надпочечника у больного с периферической аденокарциномой легкого T3N2M0, получавшего АХТ по схеме гемцитабин/карбоплатин.

В контрольной группе прогрессирование заболевания выявлено у 15 больных (48,4 %). В течение первого года наблюдения прогрессирование выявлено у 9 больных (28,1 %), из них отдаленное метастазирование выявлено в 7 случаях, а в двух наблюдениях – местный рецидив. Прогрессирование процесса на первом году наблюдения за счет отдаленного метастазирования проявлялось наиболее часто поражением головного мозга (4 случая) и лимфоузлов средостения (4 случая), затем костей скелета (2 случая), противоположного легкого (1 случай), печени (1 случай) и надпочечников (1 случай). У 1 больного выявлен метастаз в ягодичную область слева.

За второй год наблюдения в группе контроля зарегистрирован 1 случай (3,2 %) прогрессирования в виде метастатического поражения легких и плевры, еще у 5 (16,1 %) пациентов случаи прогрессирования выявлены на третьем году наблюдения (в 4 случаях – метастатическое поражение лимфоузлов, головного мозга, надпочечников, легкого и в 1 случае – рецидив в культе бронха).

В таблице 10 представлены данные о частоте и сроках прогрессирования НМРЛ у больных исследуемых групп по результатам динамического наблюдения. Кажущееся несоответствие цифр связано с наличием отдаленных метастазов одновременно в разных органах у большинства пациентов.

За период наблюдения в основной группе умерло 4 больных (12,9 %), а в контрольной группе - 10 больных (32,3 %).

Для оценки отдаленных результатов комбинированного лечения была изучена одно-, двух- и трехлетняя безрецидивная и общая выживаемость больных в обеих группах по методу Каплана-Майера.

Таблица 10 - Частота и сроки выявления метастазов и местных рецидивов рака легкого в зависимости от метода лечения

Сроки (мес)	Основная группа (n=31)		Контрольная группа (n=31)	
	Рецидивы	Метастазы	Рецидивы	Метастазы
0-3				1
4-6			2х	2
7-9		1		4
10-12		1		1
13-15		2		
16-18				
19-21	1			1
22-24				
25-30		1		2
31-36			1	2
Всего (абс. ч.)	1	5	3	15
Примечание: х - одновременное появление рецидива и метастаза				

Однолетняя безрецидивная выживаемость в основной группе составила 93,5 %, в группе контроля – 71,0 % (ОР 5,259; 95 % ДИ 1,607 - 17,209); различия статистически значимы: Logrank test $\chi^2=5,715$, $p=0,017$. Показатели двухлетней безрецидивной выживаемости при персонализированном лечении составили 83,9 %, тогда как в контрольной группе два года без признаков рецидива прожили 67,7 % больных (ОР 2,349; 95 % ДИ 0,851 - 6,484); различия статистически не значимы: Logrank test $\chi^2=2,607$, $p=0,106$. Трехлетняя безрецидивная выживаемость в основной группе составила 80,7 % (медиана не достигнута), в группе контроля – 51,6 %, медиана составила 34 месяца (ОР 2,562; 95 % ДИ 1,089 - 6,027); различия статистически значимы: Logrank test $\chi^2=4,196$, $p=0,041$ (рисунок 2).

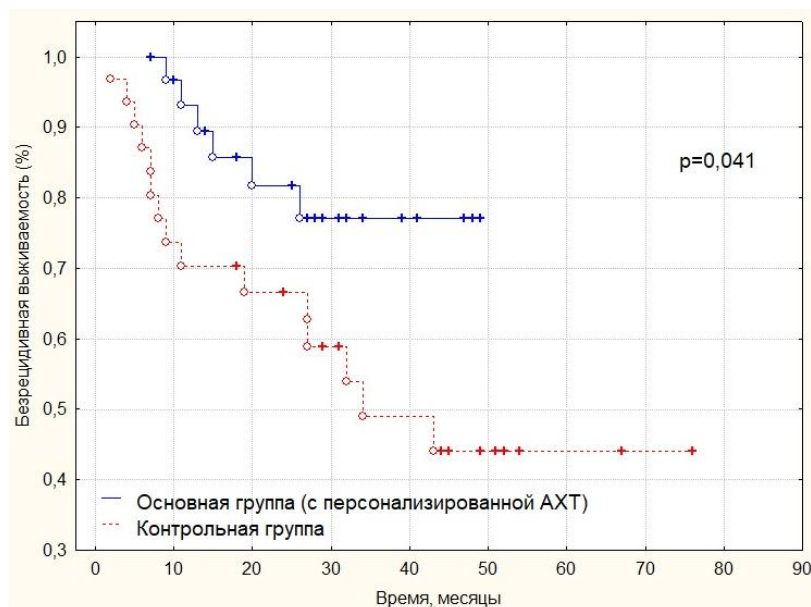


Рисунок 2 – Анализ безрецидивной выживаемости по методу Каплана-Майера.

Примечание: p – уровень статистической значимости по log-rank test

Общая выживаемость в основной группе составила 87,1 %, а в группе контроля – 67,7 % (ОР 2,266; 95 % ДИ 0,794 - 6,4681), различия статистически не значимы: Logrank test $\chi^2=2,081$, $p=0,149$ (рисунок 3).

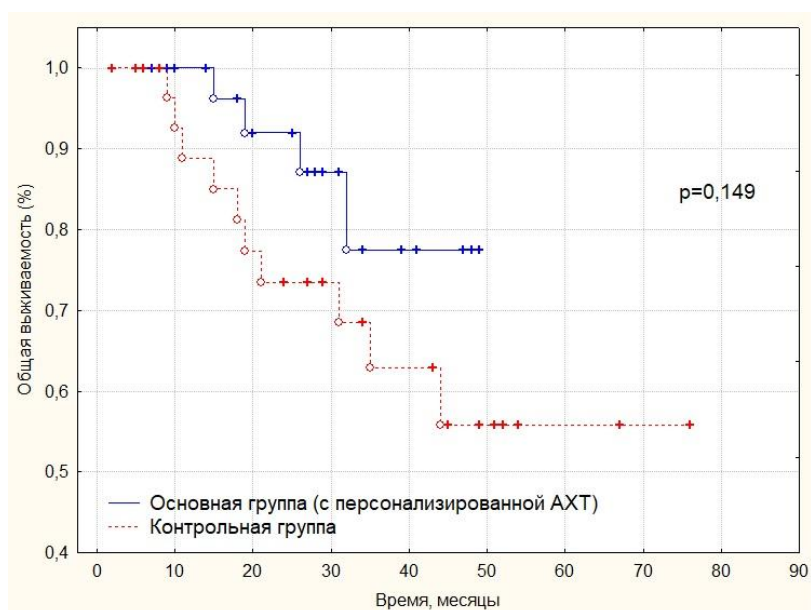


Рисунок 3 – Анализ общей выживаемости по методу Каплана-Майера.

Примечание: p – уровень статистической значимости по log-rank test

Далее была оценена связь лимфогенного метастазирования с безрецидивной выживаемостью. При отсутствии метастазов в лимфоузлы отличий в БРВ в исследуемых группах выявлено не было (ОР 0,857; 95 % ДИ 0,073 – 10,127). При метастатическом поражении бронхопульмональных и перибронхиальных лимфоузлов (N1) выявлено статистически значимое улучшение безрецидивной выживаемости при проведении персонализированного лечения на 41,3 % (ОР 5,378; 95 % ДИ 1,813 – 15,952), Logrank test $\chi^2=6,182$, $p=0,013$ (рисунок 4).

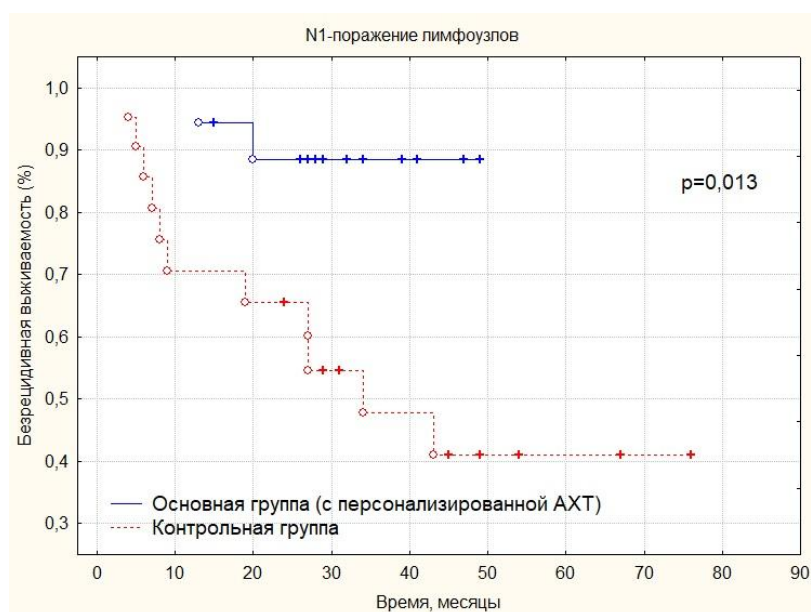


Рисунок 4 – Анализ безрецидивной выживаемости по методу Каплана-Майера при N1-поражении лимфоузлов. *Примечание: p – уровень статистической значимости по log-rank test*

При метастатическом поражении лимфоузлов средостения (N2) отличий в безрецидивной выживаемости в исследуемых группах выявлено не было (ОР 1,016; 95 % ДИ 0,169 – 6,098).

Был проведен сравнительный анализ показателей общей выживаемости в зависимости от вовлечения в процесс регионарного лимфатического аппарата и распространенности опухоли. Статистически значимых различий в исследуемых группах выявлено не было ($p>0,05$).

При сопоставлении объективного ответа опухоли после НАХТ с безрецидивной выживаемостью выявлено, что в группе с персонализированной АХТ в случае объективного ответа прогрессирование выявлено у 4 больных, а при стабилизации – 2 больных. Различия статистически не значимы (Logrank test $\chi^2=1,284$ $p=0,257$). В контрольной группе в случае клинического объективного ответа прогрессирование выявлено у 2 больных, а в случае стабилизации – у 13 больных. Различия статистически значимы (Logrank test $\chi^2=4,410$ $p=0,036$).

Мировых исследований, посвященных персонализированному назначению химиотерапии на основе оценки экспрессии генов монорезистентности становится все больше, однако большинство из них проводятся пациентам III-IV стадий. Результаты этих исследований в основном сопоставимы, и большинство авторов выступает за персонификацию лечения [24, 40, 111, 128, 178]. В частности, Zhang Q. (2014 г.) продемонстрировал, что химиотерапия, основанная на определении уровней экспрессии генов *ERCC1*, *RRM1* и *TUBB3*, показала достоверное увеличение безрецидивного периода и однолетней выживаемости у пациентов с НМРЛ без увеличения нежелательных явлений [182].

Касаемо комбинированного лечения больных с резектабельными стадиями НМРЛ, особо хочется отметить японское исследование Liu D. (2017 г.), в котором получены сопоставимые данные с нашим исследованием. Всего было включено в исследование 66 пациентов с локализованным НМРЛ (I-IIIА стадии), которым после радикальной операции проведено 2-4 курса адъювантной химиотерапии платиносодержащими дублетами. Выбор второго химиопрепарата основывался на уровне экспрессии генов *RRM1*, *TUBB3*, *ERCC1* и *TYMS*, определенных методом ИГХ. 30 пациентам назначался доцетаксел, 25 – пеметрексед, 5 – винорелбин, 5 – TS-1 (тегафур/гимерацил/отерацил), 2 пациентам – гемцитабин. Пятилетняя безрецидивная выживаемость всех больных составила 57,7 %; 75,0 %, 64,3 % и 46,2 % для I, II и III стадий НМРЛ соответственно. Пятилетняя общая выживаемость у всех больных составила 77,5 %, причем у пациентов, которым назначалась персонализированная химиотерапия, наблюдалось статистически значимое улучшение выживаемости в сравнении с больными, у которых АХТ

проводилась не в соответствии с экспрессией генов монорезистентности (100 % и 71,0 % соответственно, $p=0,0011$). Общая выживаемость для I, II и III стадий НМРЛ составила 85,7 %, 71,8 % и 78,8 % соответственно [96].

Таким образом, можно сделать вывод о повышении эффективности проводимого персонализированного комбинированного лечения за счет достоверного уменьшения количества местных рецидивов, отдаленных метастазов и улучшения показателей безрецидивной выживаемости по сравнению с группой контроля.

3.8 Связь экспрессии генов монорезистентности с безрецидивной и общей выживаемостью больных НМРЛ III стадии

На первом этапе проведена оценка экспрессии генов монорезистентности с прогрессированием и выживаемостью у больных основной группы независимо от назначенной схемы адъювантной химиотерапии ($n=31$).

В подгруппе пациентов с наличием/отсутствием гематогенных метастазов и рецидивов уровни экспрессии исследуемых генов монорезистентности статистически значимых различий не имели (таблица 11).

Таблица 11 – Уровень экспрессии генов монорезистентности в опухоли после НАХТ в зависимости от наличия гематогенных метастазов и рецидивов

Ген	Гематогенные метастазы и рецидивы		
	Наличие (n = 6)	Отсутствие (n = 25)	p-value
<i>RRM1</i>	0,90±0,17	0,68±0,12	0,227
<i>TYMS</i>	0,72±0,21	1,63±0,53	0,903
<i>ABCC5</i>	1,05±0,35	1,64±0,53	0,942
<i>ERCC1</i>	0,28±0,08	0,33±0,13	0,391
<i>TOP1</i>	0,26±0,07	0,25±0,08	0,364
<i>TOP2α</i>	1,83±0,76	2,70±0,86	0,827

<i>TUBB3</i>	4,89±2,08	3,99±0,86	0,364
<i>BRCA1</i>	0,65±0,22	0,59±0,15	0,789
Примечания: в таблице представлены средние значения экспрессии генов ± ошибка (Mean±SE); p-value- уровень значимости;			

Наши результаты противоречат мировым исследованиям, в которых высокие уровни экспрессии генов монорезистентности в большинстве случаев связаны с неблагоприятным прогнозом [19]. Одним из возможных объяснений этого феномена может быть тот факт, что в нашей работе уровень экспрессии генов монорезистентности определялся после проведения двух курсов предоперационной химиотерапии, а в других исследованиях – до лечения.

На втором этапе была оценена связь генов монорезистентности с выживаемостью с использованием метода Каплана-Майера.

При низком уровне экспрессии гена *RRM1* (менее 0,5), являющегося маркером чувствительности к гемцитабину, наблюдалась 100 % выживаемость (Logrank test $\chi^2=4,349$, $p=0,037$), тогда как при высоком уровне (более 0,5) выживаемость больных составила 68,4 % (рисунок 5). Как оказалось, экспрессия двух других маркеров чувствительности к гемцитабину *TYMS* и *ABCC5* не связана с прогнозом заболевания ($p=0,624$ и $p=0,602$ соответственно).

Ген *TUBB3*, являющийся маркером чувствительности к винорелбину, также подтвердил связь с безрецидивной выживаемостью. Было показано, что уровень экспрессии более 0,9 сопряжен с высокой безрецидивной выживаемостью – 90,9 %, а при уровне экспрессии менее 0,9 безрецидивная выживаемость составила всего 55,6 % (ОР 5,683; 95 % ДИ 0,918 – 35,195), различия статистически значимы: Logrank test $\chi^2=5,204$, $p=0,023$ (рисунок 6).

Экспрессия других генов монорезистентности *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2 α* и *BRCA1* не показали связи с безрецидивной выживаемостью ($p>0,05$).

Связи экспрессии изучаемых генов монорезистентности с общей выживаемостью выявлено не было ($p>0,05$).

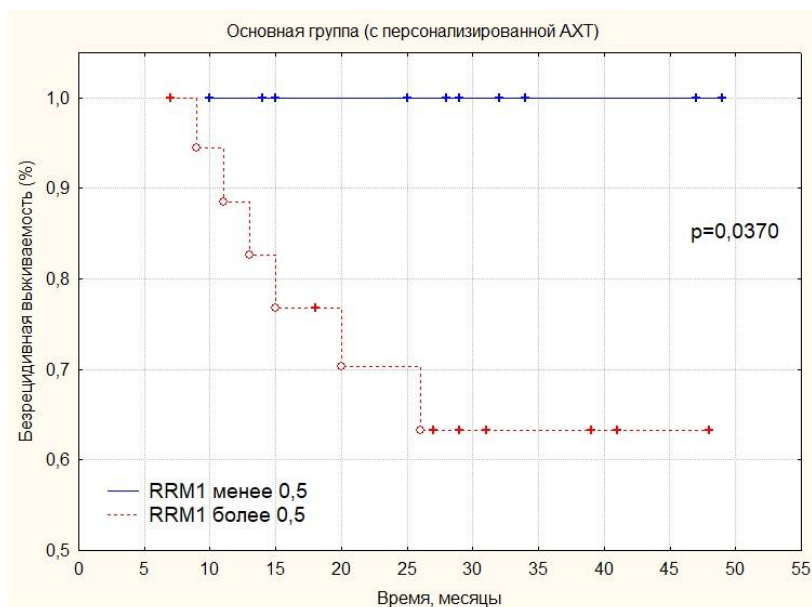


Рисунок 5 – Безрецидивная выживаемость больных НМРЛ в зависимости от уровня экспрессии гена *RRM1* – Ribonucleotide Reductase Catalytic Subunit M1 в опухоли после НАХТ. *Примечание: p* – уровень статистической значимости по *log-rank test*

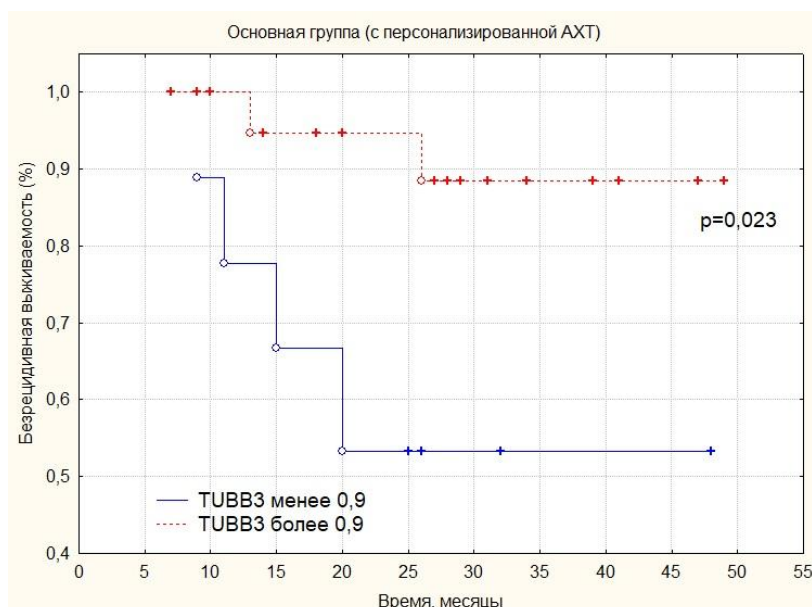


Рисунок 6 – Безрецидивная выживаемость больных НМРЛ в зависимости от уровня экспрессии гена *TUBB3* – β -тубулина класса III в опухоли после НАХТ. *Примечание: p* – уровень статистической значимости по *log-rank test*

В исследовании была оценена связь нескольких экспрессионных маркеров с безрецидивной выживаемостью. Так, при оценке уровня экспрессии генов *RRM1* и *ERCC1* было показано, что при уровне экспрессии *RRM1* менее 0,5, независимо от уровня *ERCC1* наблюдалась 100 % выживаемость. При *RRM1* более 0,5 и при нулевом уровне *ERCC1* выживаемость составила 80 %, а при уровне *ERCC1* более нуля - 55,6 % (Logrank test $\chi^2=5,220$, $p=0,156$) (рисунок 7).

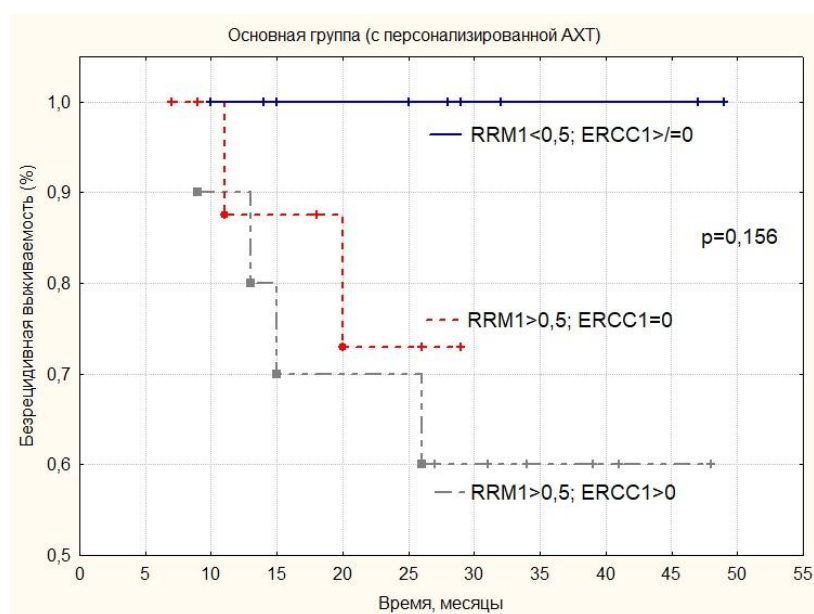


Рисунок 7 – Безрецидивная выживаемость больных НМРЛ в зависимости от уровня экспрессии гена *RRM1* – Ribonucleotide Reductase Catalytic Subunit M1 и гена эксцизионной репарации *ERCC1* в опухоли после НАХТ. *Примечание: p* – уровень статистической значимости по *log-rank test*

Большее значение имело влияние уровней коэкспрессии генов *ERCC1* и *TUBB3*. При уровне экспрессии *TUBB3* более 0,9 и при нулевом уровне *ERCC1* наблюдалась 100 % выживаемость, а при уровне *ERCC1* более 0 – 77,8 %. При уровне экспрессии *TUBB3* менее 0,9 наблюдалась худшая выживаемость, но при экспрессии *ERCC1* более 0 она составила 66,7 %, а при нулевом уровне *ERCC1* – 33,3 % (Logrank test $\chi^2=7,416$, $p=0,060$) (рисунок 8).

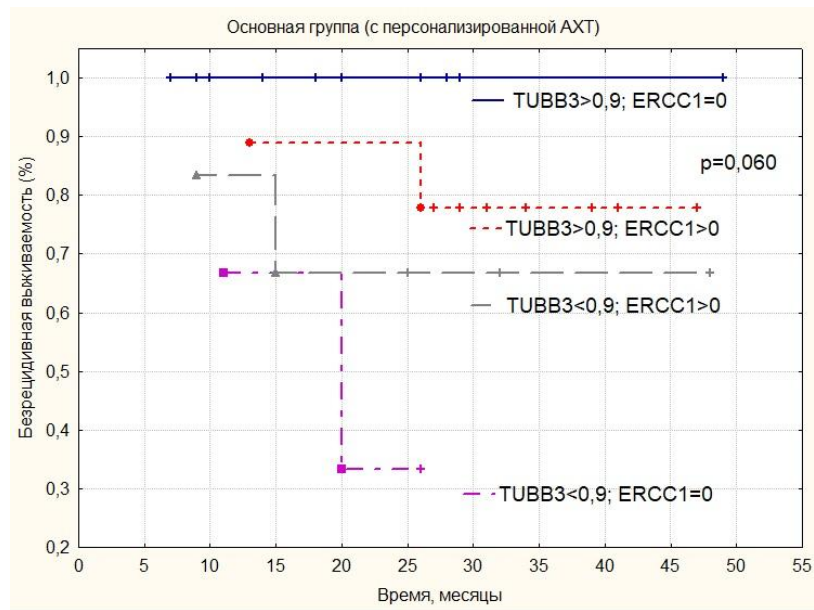


Рисунок 8 – Безрецидивная выживаемость больных НМРЛ в зависимости от уровня экспрессии гена *TUBB3* – β -тубулина класса III и гена эксцизионной репарации *ERCC1* в опухоли после НАХТ. *Примечание: p* – уровень статистической значимости по *log-rank test*

В исследовании также была оценена связь совместной экспрессии генов *RRM1* и *TUBB3* с безрецидивной выживаемостью. Было показано, что при уровне *RRM1* менее 0,5 независимо от уровня *TUBB3* наблюдалась также 100 % выживаемость. При уровне *RRM1* более 0,5 и при уровне экспрессии *TUBB3* более 0,9 безрецидивная выживаемость составила 84,6 %, а при уровне экспрессии *TUBB3* менее 0,9 – всего 40,0 %. Различия статистически значимы (Logrank test $\chi^2=9,9791$, $p=0,019$) (рисунок 9).

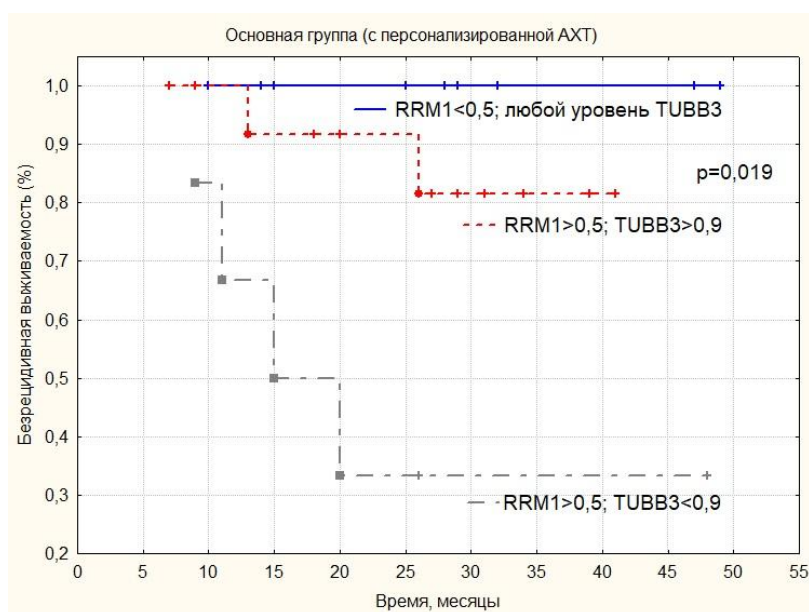


Рисунок 9 – Безрецидивная выживаемость больных НМРЛ в зависимости от уровня экспрессии гена *RRM1* – Ribonucleotide Reductase Catalytic Subunit M1 и гена *TUBB3* – β -тубулина класса III в опухоли после НАХТ. Примечание: p – уровень статистической значимости по *log-rank test*

Полученные данные коррелируют с другими исследованиями. Серри Р. с соавт. выявили сильную корреляцию между уровнями мРНК *ERCC1* и *RRM1* ($r=0,624$, $p<0,0001$). Медиана выживания у пациентов с низким уровнем *ERCC1* была значительно выше (17,3 против 10,9 месяцев; $p=0,0032$), а также у пациентов с низким уровнем *RRM1* (13,9 против 10,9 месяцев, $p=0,0390$). Низкие уровни экспрессии обоих генов *ERCC1* и *RRM1* ($n=33$) прогнозировали лучший результат (14,9 по сравнению с 10,0 месяцами; $p=0,0344$) [34]. В исследовании Sun S. было показано, что годовая выживаемость пациентов с высоким и низким уровнями *RRM1* составила 85 % и 93,7 % соответственно ($p=0,001$) [158]. Мета-анализ Zeng C. показал, что пациенты с низкой/отрицательной экспрессией *RRM1* показали лучшую выживаемость (ОР 0,41, 95 % ДИ 0,23–0,75) в сравнении с больными с высокой экспрессией *RRM1* [181]. Напротив, Vepler G. [27] не наблюдал улучшения выживаемости или частоты ответа от индивидуализированной терапии с использованием экспрессии *ERCC1* и *RRM1*.

Разница в полученных данных может, по крайней мере частично, происходить из различных подходов, используемых для измерения уровней экспрессии генов монорезистентности [182].

Исследования, касающиеся изучения уровня экспрессии *TUBB3* и его связи с выживаемостью крайне неоднородны [75]. Некоторые авторы указывают, что низкий уровень экспрессии *TUBB3* может предсказать лучшую выживаемость [77, 78, 113, 158], в то время как другие не наблюдали влияния на выживаемость [66, 95]. Подобно нашему исследованию, Zhang Y. показал, что высокие уровни экспрессии β -тубулина III класса были связаны с более длинной медианой БРВ по сравнению с низкой экспрессией β -тубулина III класса (71 против 23 месяцев, $p=0,033$) [183].

Таким образом, в проведенном исследовании показано, что в группе с персонализированной АХТ при уровне *RRM1* менее 0,5 отмечается 100 % безрецидивная выживаемость, вне зависимости от объективного ответа на химиотерапию. При экспрессии гена *TUBB3* более 0,9 также отмечается высокая безрецидивная выживаемость - 90,9 %.

Следующим этапом, с учетом полученных данных по связи уровней экспрессии генов *RRM1* и *TUBB3* с безрецидивной выживаемостью в группе с персонализированной адъювантной химиотерапией, нами была поставлена задача сравнить выживаемость больных НМРЛ в исследуемых группах в зависимости от экспрессии генов монорезистентности и назначенной схемы послеоперационной химиотерапии.

При уровне гена *RRM1* < 0,5 при персонализированном назначении гемцитабина в основной группе отмечалась значимое улучшение безрецидивной выживаемости по сравнению с группой контроля, где была продолжена химиотерапия винорелбином (100 % против 42,9 % соответственно; Log-Rank test $\chi^2=3,992$, $p=0,046$) (рисунок 10).

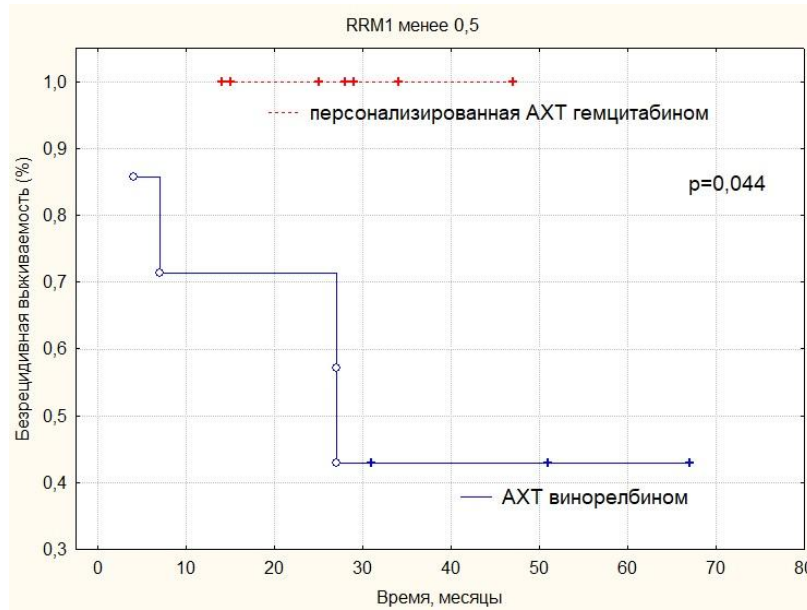


Рисунок 10 – Безрецидивная выживаемость больных НМРЛ в зависимости от уровня экспрессии гена *RRM1* в опухоли легкого после НАХТ и назначаемой схемы АХТ. Примечание: *p* – уровень статистической значимости по *log-rank test*

При уровне *TUMS* менее 1 и *ABCC5* менее 0,5 при назначении персонализированной химиотерапии гемцитабином значимых различий в сравнении с группой контроля в выживаемости получено не было (Log-rank test $\chi^2=1,589$, $p=0,207$ и Log-rank test $\chi^2=1,902$, $p=0,168$ соответственно).

При назначении винорелбина при уровне *TUBB3* 0,6-2,8 безрецидивная выживаемость составила 92,3 %, а при уровне менее 0,6 и более 2,8 – 50 % (Log-rank test $\chi^2=5,741$, $p=0,013$) (рисунок 11). Таким образом, в результате проведенного исследования были изменены пороговые значения экспрессии гена *TUBB3* для персонализированного назначения винорелбина.

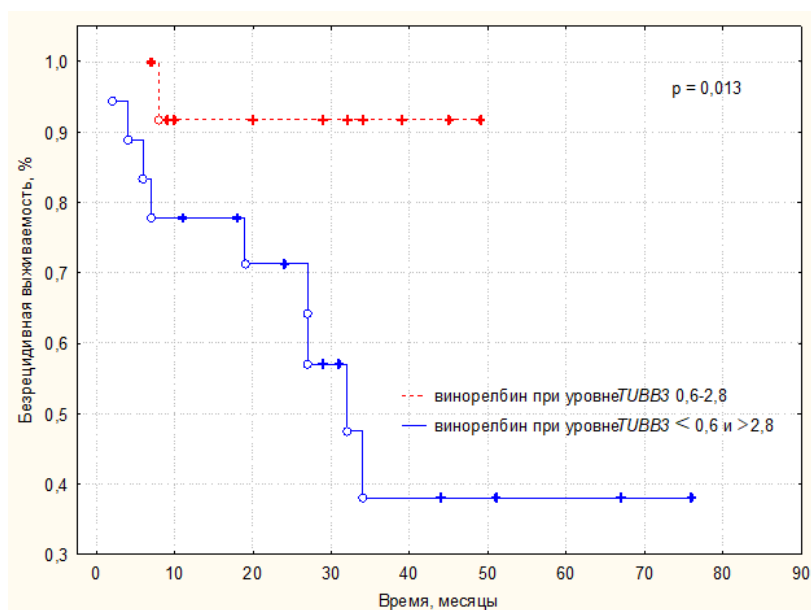


Рисунок 11 – Безрецидивная выживаемость больных НМРЛ при назначении винорелбина при различном уровне экспрессии гена *TUBB3* в опухоли после НАХТ. *Примечание: p* – уровень статистической значимости по *log-rank test*

При уровне генов *TOP2α* более 4 и *BRCA1* более 1,5 назначались доксорубин и паклитаксел в основной группе. При сравнении с пациентами контрольной группы, получавших винорелбин с такой же экспрессией генов *TOP2α* и *BRCA1*, улучшения выживаемости также получено не было (Log-rank test $\chi^2=0,000$, $p=1,000$ и $\chi^2=0,017$, $p=0,897$ соответственно), что, вероятно, связано с малой выборкой больных. В связи с тем, что иринотекан не назначался больным основной группы, сравнение уровней экспрессии *TOP1* с контрольной группой не проводилось.

По результатам проведенного исследования разработан следующий алгоритм назначения персонализированной адъювантной химиотерапии после проведения НАХТ и радикальной операции на основании маркеров, показавших прогностическую значимость:

- при уровне гена *RRM1* менее 0,5 показано назначение гемцитабина в комбинации с карбоплатином,
- при уровне *TUBB3* 0,6-2,8 показано назначение винорелбина в комбинации с карбоплатином.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рак легкого является одним из наиболее распространенных злокачественных опухолей в мире с самой высокой заболеваемостью и смертностью.

Ведущим радикальным методом лечения немелкоклеточного рака легкого остаётся хирургический. За последние 2 десятилетия расширены показания к хирургическому лечению больных НМРЛ IIIA-B стадии за счет выполнения сложных расширенных и комбинированных операций. Однако, несмотря на постоянное совершенствование хирургического метода, заметной тенденции к улучшению выживаемости не наблюдается.

Улучшение показателей выживаемости больных можно достичь при использовании комбинированной многоступенчатой терапии с направлением исследований на поиски наилучшего сочетания хирургического и химиотерапевтического методов лечения.

На сегодняшний день системная и, в частности, неоадьювантная химиотерапия все чаще применяется для лечения больных раком легкого. В недавних клинических исследованиях было установлено, что назначение НАХТ в дополнение к хирургическому лечению позволяет значительно улучшить показатели общей и безрецидивной выживаемости пациентов, включая пациентов с III стадией [150].

Применение стандартных и разработка новых схем химиотерапии в значительной мере исчерпали свои возможности в плане повышения эффективности лечения. Основным препятствием на этом пути является недостаточно эффективный выбор химиопрепаратов и тактики лечения конкретного больного, основанный на использовании стандартных клинических, прогностических и предсказательных критериев. Наличие/отсутствие в опухолевых клетках определенных маркеров приводит к тому, что опухоли, которые классифицируются как одинаковые по стандартным параметрам и имеют одинаковую стадию по классификации TNM, тем не менее различаются по

агрессивности течения заболевания и чувствительности к различным противоопухолевым средствам, что затрудняет выбор оптимального лечения для конкретного больного. Определение индивидуальной чувствительности опухоли к отдельным химиопрепаратам дает возможность планировать лечение конкретного больного.

В этой связи актуальным является разработка новых прогностических факторов, которые учитывали бы произошедшие изменения в опухоли легкого при проведении НАХТ. 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.

Целью исследования явилось улучшение результатов комбинированного лечения немелкоклеточного рака легкого III стадии с использованием предоперационной химиотерапии, радикального хирургического вмешательства и персонализированного назначения адъювантной химиотерапии на основании уровней экспрессии генов монорезистентности в опухоли.

В исследование были включено 62 больных с немелкоклеточным раком легкого IIIA стадии, проходивших лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ. Средний возраст больных составил 58,1 лет (95 % ДИ 56,6-59,5 лет).

У больных преобладали центральные клиничко-анатомические формы роста рака легкого. Несколько чаще отмечено поражение правого легкого в сравнении с левым (58,1 % и 41,9 % соответственно). Более чем у половины пациентов опухоль поражала верхнюю долю (58,1 %). Наиболее распространенной морфологической формой рака легких был плоскоклеточный рак (71,0 %), другие формы НМРЛ встречались реже.

Всем больным на первом этапе комбинированного лечения проводилось 2 курса неoadъювантной химиотерапии по схеме: винорелбин/карбоплатин с последующим оперативным лечением.

После проведения 2 курсов НАХТ наиболее распространенным эффектом явилась стабилизация процесса (39/62 больных, 62,9 %). У 21/62 больного (33,9%) зафиксирована частичная регрессия, и лишь у 2/62 больных (3,2 %) – полная регрессия опухолевого процесса. Прогрессирования заболевания в исследовании выявлено не было.

После проведения НАХТ нежелательные явления наблюдались преимущественно I-II степени выраженности. Наиболее распространенным видом токсичности явилась гематологическая: анемия в 11,3 % случаях, лейкопения – 16,1 %, нейтропения – 9,7 % и тромбоцитопения – 11,3 %. Миелосупрессивный эффект реализовался в основном на 7–11 день. Фебрильных нейтропений и инфекционных осложнений, связанных с уменьшением количества лейкоцитов, отмечено не было.

Тошнота и рвота отмечались в 11,3 % случаев. Гепатотоксичность и нефротоксичность выявлены в 9,7 % и 1,6 % наблюдений соответственно. Алоpecia при проведении НАХТ по схеме винорелбин/карбоплатин составила 6,5 %. При сопоставлении частоты осложнений после предоперационной химиотерапии по схеме винорелбин/карбоплатин с данными разных авторов существенных отличий не выявлено, частота описываемых осложнений составляет от 11 до 19 % [32, 120].

Вторым этапом комбинированного лечения всем больным выполнялось радикальное хирургическое вмешательство с медиастинальной лимфодиссекцией. Пневмонэктомии выполнены 20/62 больным (32,3 %), а резекции легких в объеме лобэктомий – 36/62 больным (58,1 %), билобэктомий – 6/62 пациентам (9,7 %). При этом органосохранные операции и с реконструктивно-пластическим компонентом (сосудисто-предсердного и трахеобронхопищеводного типа) выполнены 15 пациентам (24,2 %).

Послеоперационные осложнения оценивались в соответствии с классификацией ТММ (Thoracic Morbidity and Mortality). Осложнения развились у 19 больных (всего 22 осложнения) основной и контрольной групп (30,6 %).

Различие в количестве осложнений в изучаемых группах статистически недостоверно ($\chi^2=0,015$, $p=1,000$).

Наиболее часто встречались так называемые «малые» осложнения (II степени) – в 18/22 (81,8 %) случаях, которые были купированы с помощью лекарственной терапии. Наиболее встречаемым была фибрилляция предсердий – 7/22 (31,8 %). У пяти больных (22,7 %) развилась пневмония оставшейся доли легкого. Во всех случаях комплексное лечение позволило купировать воспалительный процесс в легких. Со стороны послеоперационной раны в 2/22 (9,1 %) случаях отмечено нагноение. Послеоперационная анемия, требующая проведение гемотрансфузии наблюдалась также в 2/22 (9,1 %) случаях.

Осложнения III степени зафиксированы у 4 больных. Один случай свернувшегося гемоторакса выявлен у больного в контрольной группе (4,5 %), купирован внутривидеальным введением фибринолитиков. У 2/22 (9,1 %) пациентов с развившейся эмпиемой плевры проводилась активная консервативная терапия, в результате которой явления воспаления были купированы. У 1 пациента (4,5 %) основной группы диагностирована несостоятельность шва культи главного бронха на первые сутки, вследствие чего потребовалась реторакотомия и ушивание культи главного бронха с положительной динамикой и выздоровлением в дальнейшем. Послеоперационной летальности в обеих группах не было.

Полученные результаты соответствуют литературным данным о частоте послеоперационных осложнений в ведущих пульмонологических клиниках страны и за рубежом и находятся в пределах среднестатистических показателей [70].

После удаления опухоли при плановой морфологической проводке оценивался лечебный патоморфоз. В основной группе лечебный патоморфоз IV степени достигнут у 2/31 (6,5 %) пациентов, III степени отмечен также у 2/31 (6,5 %) пациентов; в 17/31 случаях (54,8 %) отмечен патоморфоз II степени, и I степень ЛП зафиксирована у 10/31 пациентов – 32,3 %. В группе контроля лечебный патоморфоз III-IV степени был достигнут несколько чаще в сравнении

с основной группой (у 6/31 пациентов - 19,3 %). Патоморфоз I-II степени выявлен в 80,6 % (у 25/31 пациентов). В 16/31 случаях (51,6 %) отмечен патоморфоз II степени, а ЛП I степени - у 9/31 пациентов – 29,0 %. Статистически значимых различий при сравнении двух групп по степени лечебного патоморфоза получено не было ($F=0,643$, $p=1,000$). При сопоставлении данных об эффективности предоперационной химиотерапии с лечебным патоморфозом в обеих группах отмечено, что уменьшение размера опухоли не всегда коррелирует с повреждением ее на микроскопическом уровне.

Далее больные были распределены на две группы. Основную группу составили 31 пациент, которым после операции проведено 3 курса персонализированной адъювантной химиотерапии, назначенной на основании уровней экспрессии генов *ABCC5*, *RRM1*, *ERCC1*, *BRCA1*, *TOP1*, *TOP2 α* , *TUBB3* и *TYMS* в виде карбоплатин-содержащих дублетов со следующими химиопрепаратами: винорелбин, гемцитабин, иринотекан, доксорубицин, паклитаксел. Контрольную группу составили 31 пациент, которым послеоперационная химиотерапия проводилась по схеме винорелбин/карбоплатин.

Сразу после удаления легкого с опухолью у больных производился забор материала (нормальная ткань легких и опухолевая ткань) для молекулярно-генетического исследования с целью определения уровней экспрессии генов монорезистентности. Полученные образцы помещали в консервирующий раствор RNALater (Ambion, USA), выдерживали сутки при температуре 4 °C и далее сохраняли при температуре -80 °C. Выделение тотальной РНК из полученных образцов производили с помощью набора Plus RNeasy mini kit (Qiagen, Germany) с определением уровней экспрессии генов монорезистентности в ткани опухоли при помощи количественной ПЦР в режиме реального времени (qPCR) по технологии TaqMan.

Нами было проведено сравнение средних значений уровней экспрессии генов монорезистентности после проведения предоперационной химиотерапии в исследуемых группах. При этом уровень экспрессии генов был определен у всех

больных основной группы (31 пациент), в контрольной группе – у 21 больного. Было выявлено, что в основной группе был статистически значимо выше уровень экспрессии *TUBB3* ($p=0,004$) и *BRCA1* ($p=0,037$).

Уровень экспрессии *TOP1* был выше у больных моложе 60 лет в сравнении с пациентами старше 60 лет ($p=0,046$, коэффициент корреляции Спирмена $r=0,279$). При метастатическом поражении лимфоузлов средостения (N2) был значимо выше уровень экспрессии генов *TOP2 α* и *ABCC5* ($p=0,004$, $r=0,404$ и $p=0,003$, $r=0,417$ соответственно), а при местной распространенности опухоли T3-4 был снижен уровень *TOP2 α* ($p=0,005$, $r=0,442$).

У больных с частичной регрессией был статистически значимо выше уровень экспрессии гена *RRM1* ($p=0,019$, $r=0,426$). При оценке уровней экспрессии генов монорезистентности со степенью лечебного патоморфоза в опухоли НМРЛ после проведения НАХТ, было выявлено статистически значимое повышение уровня экспрессии *TOP2 α* при I-II степени ЛП ($p=0,048$, $r=0,401$).

Таким образом, в результате проведенного исследования было выявлено, что экспрессия исследуемых генов слабо коррелирует с клинко-морфологическими параметрами, эффективностью неoadъювантной химиотерапии и лечебным патоморфозом в опухоли после НАХТ.

При изучении уровней экспрессии генов монорезистентности у больных контрольной группы нами были определены пороговые значения и показания к назначению адъювантной химиотерапии больным основной группы:

1. *RRM1* или *TYMS* менее 1,0, *ABCC5* менее 0,5 - назначается гемцитабин;
2. *TOP1* более 2 - назначается иринотекан;
3. *TUBB3* 0,6-1,5 - назначается винорелбин;
4. *TOP2 α* более 4 - назначается доксорубин;
5. *BRCA1* более 1,5 – назначается паклитаксел.

Таким образом, на основании данных молекулярно-генетического анализа в опухолевом материале после НАХТ у 10/31 пациентов (32,3 %) продолжена химиотерапия по схеме винорелбин/карбоплатин, смена режима адъювантной химиотерапии проведена у 21/31 больного (67,7 %) – в 16/31 случаях (51,6 %) на

гемцитабин/карбоплатин, в 3/31 случаях (9,7 %) – паклитаксел/карбоплатин и в 2/31 случаях (6,5 %) – доксорубицин/карбоплатин.

В целом, нежелательные явления при проведении послеоперационной химиотерапии встречались несколько чаще, чем в предоперационном режиме, что, по-видимому, связано с увеличением количества курсов химиотерапии, а также со снижением резервных возможностей организма после обширного хирургического вмешательства. Стоит отметить, что осложнения, возникшие при проведении адъювантной химиотерапии в обеих группах, носили кратковременный и обратимый характер.

Наиболее частым видом гематологической токсичности была анемия легкой и средней степени тяжести - 22,6 %, лейкопения I-II степени – 12,9 %, лейкопения III степени – 4,8 %, нейтропения I-II степени – 9,7 %, нейтропения III степени – 4,8 %, тромбоцитопения I-II – 11,3 %, тромбоцитопения III степени – 4,8 %. Гастроинтестинальная токсичность выявлена в 19,3 % случаев, нефротоксичность – 3,2 %, алоpecia – 17,7 %. В основной группе наблюдался 1 случай (1,6 %) артралгии на фоне курсов химиотерапии по схеме паклитаксел/карбоплатин, которая была купирована назначением НПВС.

Период наблюдения за больными составил от 4 до 76 месяцев. В основной группе прогрессирование заболевания наблюдалось у 6/31 (19,4 %) больных. В течение первого года наблюдения прогрессирование заболевания выявлено у двух больных (6,5 %), на втором году – у трех больных (9,7 %) и на третьем году еще у одного пациента (3,2 %).

В контрольной группе прогрессирование заболевания выявлено у 15/31 больных - 48,4 %. При этом в течение первого года наблюдения выявлено у 9 больных (28,1 %), за второй год зарегистрирован 1 случай (3,2 %), еще у 5 пациентов (16,1 %) случаи прогрессирования выявлены на третьем году наблюдения.

За период наблюдения в основной группе умерло 4/31 больных (12,9 %), а в контрольной группе – 10/31 больных (32,3 %).

Трехлетняя безрецидивная выживаемость в основной группе составила 80,7 %, в группе контроля – 51,6 % (ОР 2,562; 95 % ДИ 1,089 - 6,027); различия статистически значимы: Logrank test $\chi^2=4,196$, $p=0,041$.

Общая выживаемость в основной группе составила 87,1 %, а в группе контроля – 67,7 % (ОР 2,266; 95 % ДИ 0,794 - 6,4681), различия статистически не значимы: Logrank test $\chi^2=2,081$, $p=0,149$.

Также была оценена связь лимфогенного метастазирования с безрецидивной выживаемостью. Выявлено, что при метастатическом поражении N1-поражении лимфоузлов выявлено статистически значимое улучшение безрецидивной выживаемости при проведении персонализированного лечения на 41,3 % (ОР 5,378; 95 % ДИ 1,813 – 15,952), Logrank test $\chi^2=6,182$, $p=0,013$.

Таким образом, в результате трехлетнего наблюдения установлено, что проведение комбинированного лечения с персонализированным назначением АХТ в основной группе достоверно уменьшило количество развившихся локорегиональных рецидивов и отдаленных метастазов и улучшило показатели выживаемости больных по сравнению с контрольной группой.

При сравнении выживаемости больных НМРЛ в исследуемых группах в зависимости от экспрессии генов монорезистентности и назначенной схемы химиотерапии было показано статистически значимое улучшение БРВ при назначении гемцитабина при уровне гена *RRM1* < 0,5 и при назначении винорелбина при уровне *TUBB3* 0,6-2,8 (100 % и 92,3 %, $p=0,044$ и $p=0,013$ соответственно). Для остальных генов монорезистентности связи с безрецидивной и общей выживаемостью не выявлено. Таким образом, в результате проведенного исследования были изменены пороговые значения экспрессии генов *RRM1* и *TUBB3* для персонализированного назначения гемцитабина и винорелбина соответственно.

ВЫВОДЫ

1. Разработан и клинически апробирован способ комбинированного лечения немелкоклеточного рака легкого III стадии, включающий проведение неoadьювантной химиотерапии по схеме винорелбин/карбоплатин с последующим радикальным хирургическим вмешательством и персонализированную адьювантную химиотерапию, выбор схемы которой зависит от уровня экспрессии генов монорезистентности *BRCA1*, *RRM1*, *ERC1*, *TOP1*, *TOP2 α* , *TUBB3*, *TYMS* и *ABCC5* в опухолевой ткани в операционном материале, определенных методом ПЦР в режиме реального времени.

2. Общая эффективность неoadьювантной химиотерапии по схеме винорелбин/карбоплатин составила 37,1 % (полная регрессия – 3,2 %; частичная регрессия – 33,9 %), стабилизация – 62,9 % случаев, при этом лечебный патоморфоз III–IV степени выявлен в 16,1 % случаев. Осложнения, возникающие при проведении периоперационной химиотерапии, умеренно выражены, корректируются назначением специальной медикаментозной терапии и не оказывают существенного влияния на течение послеоперационного периода, в исследуемых группах статистических различий не выявлено ($p > 0,05$).

3. Выявлена связь экспрессии *TOP1* с возрастом больных ($r=0,279$), *TOP2 α* и *ABCC5* с лимфогенным метастазированием ($r=0,404$ и $r=0,417$ соответственно), и *TOP2 α* с местной распространенностью ($r=0,442$).

4. Разработанный способ персонализированной схемы послеоперационной химиотерапии, основанный на определении экспрессии генов монорезистентности позволяет статистически значимо увеличить трехлетнюю безрецидивную выживаемость больных до 80,7 % по сравнению с группой контроля – 51,6 % (ОР 2,562; 95% ДИ 1,089 - 6,027; Logrank test $\chi^2=4,196$, $p=0,041$).

5. При уровне экспрессии гена *RRM1* менее 0,5 и *TUBB3* 0,6-2,8 при персонализированном назначении адьювантной химиотерапии отмечается высокая безрецидивная выживаемость – 100 % и 92,3 % ($p=0,046$ и $p=0,013$).

соответственно). Для остальных генов монорезистентности прогностической значимости выявлено не было, что позволяет рекомендовать использование в качестве маркеров для назначения персонализированной адъювантной химиотерапии только гены *RRM1* и *TUBB3*.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Больным немелкоклеточным раком легкого III стадии показано проведение комбинированного лечения, включающего 2 курса неoadъювантной химиотерапии по схеме винорелбин/карбоплатин с последующим радикальным оперативным вмешательством и 3 курса персонализированной адъювантной химиотерапии

2. Выбор схемы персонализированной химиотерапии проводится на основании определения уровней экспрессии генов монорезистентности *RRM1* и *TUBB3* в опухолевой ткани после НАХТ методом ПЦР в режиме реального времени. Назначаются карбоплатин-содержащие дублеты: при уровне *RRM1* менее 0,5 назначается гемцитабин, а при уровне *TUBB3* 0,6-2,8 назначается винорелбин.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барчук, А. С. Стандарты лечения немелкоклеточного рака легкого / А. С. Барчук // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. – 2003. – Т. 14, № 1. – С. 3–7.
2. Величко, С. А. Спиральная компьютерная томография в оценке эффективности неoadьювантной химиотерапии немелкоклеточного рака легкого / С. А. Величко, С. В. Миллер, С. А. Тузиков и др. // Сибирский онкологический журнал. – 2008. – №3. – С. 66–69.
3. Владимирова, Л. Ю. Практические рекомендации по профилактике и лечению тошноты и рвоты у онкологических больных / Л. Ю. Владимирова, О. А. Гладков, Л. М. Когония, И. А. Королева, Т. Ю. Семиглазова // Злокачественные опухоли : Практические рекомендации RUSSCO. – 2017. – Т. 3, №3s2. – С. 466–476.
4. Каприн, А. Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2015 году / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, Г. В. Петрова. – Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2016. – 236 с.
5. Каприн, А. Д. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность) / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, Г. В. Петрова. – Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. – 250 с.
6. Лавникова, Г. А. Гистологический метод количественной оценки терапевтического повреждения опухоли / Г. А. Лавникова. – Москва: Методические рекомендации, 1979. – 13 с.
7. Лазарев, А. Ф. Онкология / А. Ф. Лазарев. – Барнаул: АлтГМУ, 2007. – 486 с.
8. Литвяков, Н. В. Регуляция экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли молочной железы при проведении неoadьювантной химиотерапии : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.12 / Литвяков Николай Васильевич. – СПб., 2014. – 46 с.
9. Миллер, С. В. Современные возможности комбинированного лечения

- местно-распространенного немелкоклеточного рака легкого и коррекции послеоперационных осложнений : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.14 / Миллер Сергей Викторович. – Томск, 2009. – 57 с.
10. Переводчикова, Н. И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / Н. И. Переводчикова, В. А. Горбунова. – Москва: Практическая медицина, 2017. – 688 с.
 11. Писарева, Л. Ф. Заболеваемость раком легкого населения Томской области / Л. Ф. Писарева, И. Н. Одинцова, В. А. Воробьев и др. // Сибирский онкологический журнал. – 2012. – №4. – С. 43–47.
 12. Трахтенберг, А. Х. Рак легкого / А. Х. Трахтенберг, К. И. Колбанов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 160 с.
 13. Черных, А. В. Совершенствование хирургического метода лечения больных раком легкого : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.17 / Черных Александр Васильевич. – Рязань, 2010. – 46 с.
 14. Aigner, C. Sleeve pneumonectomy / C. Aigner, G. Lang, W. Klepetko // Semin. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 2006. – Vol. 18, №2. – P. 109–13.
 15. Al-Sarraf, N. Pattern and predictors of occult mediastinal lymph node involvement in non-small cell lung cancer patients with negative mediastinal uptake on positron emission tomography / N. Al-Sarraf, R. Aziz, K. Gately et al. // Eur. J. Cardiothorac. Surg. – 2008. – Vol. 33, №1. – P. 104–9.
 16. Al-Shahrabani, F. Surgical strategies in the therapy of non-small cell lung cancer / F. Al-Shahrabani // World J. Clin. Oncol. – 2014. – Vol. 5, №4. – P. 595.
 17. Ali, Y. Human topoisomerase II alpha as a prognostic biomarker in cancer chemotherapy / Y. Ali, S. Abd Hamid // Tumor Biol. – 2016. – Vol. 37, №1. – P. 47–55.
 18. Alifano, M. Sleeve pneumonectomy / M. Alifano, J.-F. Regnard // Multimed. Man. Cardiothorac. Surg. MMCTS. – 2007. – №507. – P. mmcts.2006.002113.
 19. Amiri-Kordestani, L. Targeting MDR in breast and lung cancer: Discriminating its potential importance from the failure of drug resistance reversal studies / L. Amiri-Kordestani, A. Basseville, K. Kurdziel et al. // Drug Resist. Updat. – 2012. – Vol.

- 15, №1–2. – P. 50–61.
20. Arriagada, R. Adjuvant chemotherapy, with or without postoperative radiotherapy, in operable non-small-cell lung cancer: two meta-analyses of individual patient data / R. Arriagada, A. Auperin, S. Burdett et al. // *Lancet*. – 2010. – Vol. 375, №9722. – P. 1267–77.
 21. Arriagada, R. Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer / R. Arriagada, B. Bergman, A. Dunant et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 350, №4. – P. 351–360.
 22. Arriagada, R. Long-term results of the international adjuvant lung cancer trial evaluating adjuvant cisplatin-based chemotherapy in resected lung cancer / R. Arriagada, A. Dunant, J.-P. Pignon et. al // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 28, №1. – P. 35–42.
 23. Azuma, K. Excision repair cross-complementation group 1 predicts progression-free and overall survival in non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy / K. Azuma, Y. Komohara, T. Sasada et al. // *Cancer Sci.* – 2007. – Vol. 98, №9. – P. 1336–1343.
 24. Azzoli, C. G. Molecularly tailored adjuvant chemotherapy for resected non-small cell lung cancer: a time for excitement and equipoise / C. G. Azzoli, B. J. Park, W. Pao et al. // *J. Thorac. Oncol.* – 2008. – Vol. 3, №1. – P. 84–93.
 25. Bepler, G. RRM1 modulated in vitro and in vivo efficacy of gemcitabine and platinum in non-small-cell lung cancer / G. Bepler, I. Kusmartseva, S. Sharma et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2006. – Vol. 24, №29. – P. 4731–7.
 26. Bepler, G. Clinical efficacy and predictive molecular markers of neoadjuvant gemcitabine and pemetrexed in resectable non-small cell lung cancer / G. Bepler, K. E. Sommers, A. Cantor et al. // *J. Thorac. Oncol.* – 2008. – Vol. 3, №10. – P. 1112–1118.
 27. Bepler, G. Randomized international phase III trial of ERCC1 and RRM1 expression-based chemotherapy versus gemcitabine/carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer / G. Bepler, C. Williams, M. J. Schell et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2013. – Vol. 31, №19. – P. 2404–12.

28. Bepler, G. A phase 2 cooperative group adjuvant trial using a biomarker-based decision algorithm in patients with stage I non-small cell lung cancer (SWOG-0720, NCT00792701) / G. Bepler, R. G. Zinner, J. Moon et al. // *Cancer*. – 2014. – Vol. 120, №15. – P. 2343–2351.
29. Booton, R. ERCC1 mRNA expression is not associated with response and survival after platinum-based chemotherapy regimens in advanced non-small cell lung cancer / R. Booton, T. Ward, L. Ashcroft et al. // *J. Thorac. Oncol.* – 2007. – Vol. 2, №10. – P. 902–906.
30. Bueno, R. Nodal stage after induction therapy for stage IIIA lung cancer determines patient survival / R. Bueno, W. G. Richards, S. J. Swanson et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2000. – Vol. 70, №6. – P. 1826–1831.
31. Burdett, S. Preoperative chemotherapy for non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual participant data / S. Burdett, L. Rydzewska, J. Tierney et al. // *Lancet*. – 2014. – Vol. 383, №9928. – P. 1561–1571.
32. Butts, C. A. Randomized phase III trial of vinorelbine plus cisplatin compared with observation in completely resected stage IB and II non-small-cell lung cancer: updated survival analysis of JBR-10 / C. A. Butts, K. Ding, L. Seymour et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 28, №1. – P. 29–34.
33. Calikusu, Z. The effect of HER2 expression on cisplatin-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients / Z. Calikusu, Y. Yildirim, Z. Akcali et al. // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* – 2009. – Vol. 28, №1. – P. 97.
34. Ceppi, P. ERCC1 and RRM1 gene expressions but not EGFR are predictive of shorter survival in advanced non-small-cell lung cancer treated with cisplatin and gemcitabine / P. Ceppi, M. Volante, S. Novello et al. // *Ann. Oncol.* – 2006. – Vol. 17, №12. – P. 1818–1825.
35. Cerfolio, R. J. Survival of patients with unsuspected N2 (stage IIIA) nonsmall-cell lung cancer. / R. J. Cerfolio, A. S. Bryant // *Ann. Thorac. Surg.* – 2008. – Vol. 86, №2. – P. 362-6-7.
36. Cerfolio, R. J. Routine mediastinoscopy and esophageal ultrasound fine-needle aspiration in patients with non-small cell lung cancer who are clinically N2

- negative: A prospective study / R. J. Cerfolio, A. S. Bryant, M. A. Eloubeidi // *Chest*. – 2006. – Vol. 130, №6. – P. 1791–1795.
37. Chabes, A. Survival of DNA damage in yeast directly depends on increased dNTP levels allowed by relaxed feedback inhibition of ribonucleotide reductase / A. Chabes, B. Georgieva, V. Domkin et al. // *Cell*. – 2003. – Vol. 112, №3. – P. 391–401.
38. Chansky, K. The international association for the study of lung cancer staging project: prognostic factors and pathologic TNM stage in surgically managed non-small cell lung cancer / K. Chansky, J.-P. Sculier, J. J. Crowley et al. // *J. Thorac. Oncol.* – 2009. – Vol. 4, №7. – P. 792–801.
39. Ciccolini, J. Pharmacokinetics and pharmacogenetics of Gemcitabine as a mainstay in adult and pediatric oncology: an EORTC-PAMM perspective / J. Ciccolini, C. Serdjebi, G. J. Peters, E. Giovannetti // *Cancer Chemother. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 78, №1. – P. 1–12.
40. Cobo, M. Customizing cisplatin based on quantitative excision repair cross-complementing 1 mRNA expression: a phase III trial in non-small-cell lung cancer / M. Cobo, D. Isla, B. Massuti et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2007. – Vol. 25, №19. – P. 2747–2754.
41. Crino, L. Early stage and locally advanced (non-metastatic) non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up / L. Crino, W. Weder, J. van Meerbeeck, E. Felip // *Ann. Oncol.* – 2010. – Vol. 21, №Supplement 5. – P. v103–v115.
42. D'Andrilli, A. Pulmonary artery reconstruction with pulmonary vein conduit for lung cancer: medium-term results / A. D'Andrilli, G. Maurizi, C. Andreotti et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2014. – Vol. 98, №3. – P. 990–5.
43. Dean, M. Tumour stem cells and drug resistance / M. Dean, T. Fojo, S. Bates // *Nat. Rev. Cancer* – 2005. – Vol. 5, №4. – P. 275–284.
44. Deslauriers, J. Sleeve lobectomy versus pneumonectomy for lung cancer: a comparative analysis of survival and sites or recurrences / J. Deslauriers, J. Grégoire, L. F. Jacques et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2004. – Vol. 77, №4. – P.

- 1152–1156.
45. Deslauriers, J. Clinical and surgical staging of non-small cell lung cancer / J. Deslauriers, J. Grégoire, A. Matsumura et al. // *Chest*. – 2000. – Vol. 117, №4 Suppl. 1. – P. 96S–103S.
 46. Doddoli, C. Does the extent of lymph node dissection influence outcome in patients with stage I non-small-cell lung cancer? / C. Doddoli, A. Aragon, F. Barlesi et al. // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* – 2005. – Vol. 27, №4. – P. 680–5.
 47. Dong, X. response to first-line chemotherapy in patients with non-small cell lung cancer according to RRM1 expression / X. Dong, Y. Hao, Y. Wei et al. // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, №3. – P. e92320.
 48. Douillard, J.-Y. Adjuvant vinorelbine plus cisplatin versus observation in patients with completely resected stage IB-IIIa non-small-cell lung cancer (Adjuvant Navelbine International Trialist Association [ANITA]): a randomised controlled trial / J.-Y. Douillard, R. Rosell, M. De Lena et al. // *Lancet. Oncol.* – 2006. – Vol. 7, №9. – P. 719–27.
 49. Eijdem, E. Altered MRP is associated with multidrug resistance and reduced drug accumulation in human SW-1573 cells / E. Eijdem, G. Zaman, M. De Haas et al. // *Br. J. Cancer* – 1995. – Vol. 72. – P. 298–306.
 50. Ferlay, J. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 / J. Ferlay, J. Ferlay, I. Soerjomataram et al. // *Int. J. Cancer* – 2014. – Vol. 136, №5. – P. E359-86.
 51. Ferlay, J. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012 / J. Ferlay, J. Ferlay, E. Steliarova-Foucher et al. // *Eur. J. Cancer* – 2013. – Vol. 49, №6. – P. 1374–1403.
 52. Friboulet, L. ERCC1 isoform expression and DNA repair in non-small-cell lung cancer / L. Friboulet, K. A. Olausson, J.-P. Pignon et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2013. – Vol. 368, №12. – P. 1101–1110.
 53. Fujii, T. ERCC1 protein expression predicts the response of cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy in non-small-cell lung cancer / T. Fujii, S. Toyooka, K. Ichimura et al. // *Lung Cancer*. – 2008. – Vol. 59, №3. – P. 377–384.

54. Gao, Z. Relations between RRM1 protein expression levels and effects of gemcitabine and cisplatin chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients / Z. Gao, B. Han, J. Shen et al. // *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*. – 2011. – Vol. 14, №4. – P. 340–4.
55. Gautam, A. Suppression of lung tumor formation by the regulatory subunit of ribonucleotide reductase / A. Gautam, G. Bepler // *Cancer Res*. – 2006. – Vol. 66, №13. – P. 6497–502.
56. Giovannetti, E. Cellular and pharmacogenetics foundation of synergistic interaction of pemetrexed and gemcitabine in human non-small-cell lung cancer cells / E. Giovannetti, V. Mey, S. Nannizzi et al. // *Mol. Pharmacol*. – 2005. – Vol. 68, №1. – P. 110–8.
57. Goldstraw, P. 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 / P. Goldstraw, J. Crowley, K. Chansky et al. // *J. Thorac. Oncol*. – 2007. – Vol. 2, №8. – P. 706–714.
58. Goldstraw, P. Surgical management of non-small-cell lung cancer with ipsilateral mediastinal node metastasis (N2 disease) / P. Goldstraw, G. C. Mannam, D. K. Kaplan, P. Michail // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg*. – 1994. – Vol. 107, №1. – P. 19–27–8.
59. Grabauskiene, S. CHK1 levels correlate with sensitization to pemetrexed by CHK1 inhibitors in non-small cell lung cancer cells / S. Grabauskiene, E. J. Bergeron, G. Chen et al. // *Lung Cancer*. – 2013. – Vol. 82, №3. – P. 477–484.
60. Gregory, R.K. Vinorelbine--a clinical review / R. K. Gregory, I. E. Smith // *Br. J. Cancer* – 2000. – Vol. 82, №12. – P. 1907–13.
61. Gridelli, C. Recent issues in first-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer: results of an international expert panel meeting of the italian association of thoracic oncology / C. Gridelli, A. Ardizzoni, J.-Y. Douillard et al. // *Lung Cancer*. – 2010. – Vol. 68, №3. – P. 319–331.
62. Grillo, H.C. Carinal Reconstruction / H. C. Grillo // *Ann. Thorac. Surg*. – 1982. – Vol. 34, №4. – P. 356–373.

63. Grunenwald, D.H. Radical en bloc resection for lung cancer invading the spine / D. H. Grunenwald, C. Mazel, P. Girard et al. // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2002. – Vol. 123, №2. – P. 271–279.
64. Hamamoto, J. Non-small cell lung cancer PC-9 cells exhibit increased sensitivity to gemcitabine and vinorelbine upon acquiring resistance to EGFR-tyrosine kinase inhibitors / J. Hamamoto, H. Yasuda, K. Aizawa et al. // *Oncol. Lett.* – 2017. – Vol. 14, №3. – P. 3559–3565.
65. Hillinger, S. Extended surgical resection in stage III non-small cell lung cancer / S. Hillinger, W. Weder // *Front. Radiat. Ther. Oncol.* – 2010. – Vol. 42. – P. 115–21.
66. Huang, Z. 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 / Z. Huang, X. Cao, R. Luo et al. // *Oncol. Lett.* – 2015. – Vol. 11, №1. – P. 299–305.
67. Hwang, I. G. ERCC1 expression as a prognostic marker in N2(+) nonsmall-cell lung cancer patients treated with platinum-based neoadjuvant concurrent chemoradiotherapy / I. G. Hwang, M. J. Ahn, B. B. Park et al. // *Cancer.* – 2008. – Vol. 113, №6. – P. 1379–1386.
68. Ikeda, N. Individualized adjuvant chemotherapy for surgically resected lung cancer and the roles of biomarkers / N. Ikeda, S. Nagase, T. Ohira // *Ann. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2009. – Vol. 15, №3. – P. 144-149.
69. Itamochi, H. Sensitivity to anticancer agents and resistance mechanisms in clear cell carcinoma of the ovary / H. Itamochi, J. Kigawa, H. Sultana et al. // *Japanese J. Cancer Res.* – 2002. – Vol. 93, №6. – P. 723–728.
70. Ivanovic, J. Evaluating the reliability and reproducibility of the Ottawa thoracic morbidity and mortality classification system / J. Ivanovic, A. Al-Hussaini, D. Al-Shehab et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2011. – Vol. 91, №2. – P. 387–393.
71. Izbicki, J. R. Risk analysis and long-term survival in patients undergoing extended resection of locally advanced lung cancer. / J. R. Izbicki, W. T. Knoefel, B. Passlick et al. // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 1995. – Vol. 110, №2. – P. 386–95.
72. Izbicki, J. R. Impact of radical systematic mediastinal lymphadenectomy on tumor

- staging in lung cancer / J. R. Izbicki, B. Passlick, O. Karg et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 1995. – Vol. 59. – P. 209–14.
73. Jaklitsch, M. T. Nodal downstaging predicts survival following induction chemotherapy for stage IIIA (N2) non-small cell lung cancer in CALGB protocol #8935 / M. T. Jaklitsch, J. E. Herndon, M. M. DeCamp et al. // *J. Surg. Oncol.* – 2006. – Vol. 94, №7. – P. 599–606.
74. Jakobsen, J. N. Intratumour variation of biomarker expression by immunohistochemistry in resectable non-small cell lung cancer / J. N. Jakobsen, E. Santoni-Rugiu, J. Ravn, J. B. Sørensen // *Eur. J. Cancer.* – 2013. – Vol. 49, №11. – P. 2494–2503.
75. Jakobsen, J. N. Use of TUBB3 for patient stratification and prognosis in lung cancer / J. N. Jakobsen, E. Santoni-Rugiu, J. B. Sørensen // *Lung Cancer Manag.* – 2015. – Vol. 4, №2. – P. 97–110.
76. Jakobsen, J. N. Intratumor heterogeneity and chemotherapy-induced changes in EGFR status in non-small cell lung cancer / J. N. Jakobsen, J. B. Sørensen // *Cancer Chemother. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 69, №2. – P. 289–299.
77. Jiang, H. Correlation between microtubule-associated gene expression and chemosensitivity of patients with stage II non-small cell lung cancer / H. Jiang, X.-M. Yu, X.-M. Zhou et al. // *Exp. Ther. Med.* – 2013. – Vol. 5, №5. – P. 1506–1510.
78. Kang, C. H. The prognostic significance of ERCC1, BRCA1, XRCC1, and β III-tubulin expression in patients with non-small cell lung cancer treated by platinum- and taxane-based neoadjuvant chemotherapy and surgical resection / C. H. Kang, B. G. Jang, D.-W. Kim et al. // *Lung Cancer.* – 2010. – Vol. 68, №3. – P. 478–483.
79. Kanzawa, F. Establishment of a camptothecin analogue (CPT-11)-resistant cell line of human non-small cell lung cancer: characterization and mechanism of resistance / F. Kanzawa, Y. Sugimoto, K. Minato et al. // *Cancer Res.* – 1990. – Vol. 50, №18. – P. 5919–24.
80. Kavallaris, M. Antisense oligonucleotides to class III β -tubulin sensitize drug-resistant cells to Taxol / M. Kavallaris, C. A. Burkhart, S. B. Horwitz // *Br. J.*

- Cancer. – 1999. – Vol. 80, №7. – P. 1020–1025.
81. Kennedy, R. D. BRCA1: mechanisms of inactivation and implications for management of patients / R. D. Kennedy, J. E. Quinn, P. G. Johnston, D. P. Harkin // *Lancet*. – 2002. – Vol. 360, №9338. – P. 1007–14.
 82. Kim, E. S. Chemotherapy resistance in lung cancer / E. S. Kim // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2016. – Vol. 893. – P. 189–209.
 83. Kostopoulos, I. Topoisomerase I but not thymidylate synthase is associated with improved outcome in patients with resected colorectal cancer treated with irinotecan containing adjuvant chemotherapy / I. Kostopoulos, V. Karavasilis, M. Karina et al. // *BMC Cancer*. – 2009. – Vol. 9, №1. – P. 339.
 84. Kubota, N. Detection of topoisomerase I gene point mutation in CPT-11 resistant lung cancer cell line. / N. Kubota, F. Kanzawa, K. Nishio et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1992. – Vol. 188, №2. – P. 571–7.
 85. Kumar, G. L. Иммуногистохимические методы: Руководство / G. L. Kumar, L. Rudbeck / Пер. с англ. Г. А. Франка и П. Г. Малькова. – М., 2011. – 224 с.
 86. Kyu-Ho Han, E. Modulation of drug resistance by α -tubulin in paclitaxel-resistant human lung cancer cell lines / E. Kyu-Ho Han, L. Gehrke, S. K. Tahir et al. // *Eur. J. Cancer*. – 2007. – Vol. 43, №6. – P. 1108.
 87. Lacave, R. Comparative evaluation by semiquantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of MDR1, MRP and GSTp gene expression in breast carcinomas / R. Lacave, F. Coulet, S. Ricci et al. // *Br. J. Cancer*. – 1998. – Vol. 77, №5. – P. 694–702.
 88. Lang, G. Extracorporeal membrane oxygenation support for resection of locally advanced thoracic tumors / G. Lang, S. Taghavi, C. Aigner et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2011. – Vol. 92, №1. – P. 264–70.
 89. Lardinois, D. Morbidity, survival, and site of recurrence after mediastinal lymph-node dissection versus systematic sampling after complete resection for non-small cell lung cancer / D. Lardinois, H. Suter, H. Hakki et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2005. – Vol. 80, №1. – P. 268–74–5.
 90. Lee, H. W. Expression of excision repair cross-complementation group 1 protein

- predicts poor outcome in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based doublet chemotherapy. / H. W. Lee, Y.-W. Choi, J. H. Han et al. // *Lung Cancer*. – 2009. – Vol. 65, №3. – P. 377–82.
91. Lee, S. M. Randomized prospective biomarker trial of ERCC1 for comparing platinum and nonplatinum therapy in advanced non-small-cell lung cancer: ERCC1 Trial (ET) / S. M. Lee, M. Falzon, F. Blackhall et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2017. – Vol. 35, №4. – P. 402–411.
 92. Lei, J. ECMO-assisted carinal resection and reconstruction after left pneumonectomy / J. Lei, K. Su, X. F. Li et al. // *J. Cardiothorac. Surg.* – 2010. – Vol. 5, №1. – P. 89.
 93. Leith, C. P. Frequency and clinical significance of the expression of the multidrug resistance proteins MDR1/P-glycoprotein, MRP1, and LRP in acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group Study / C. P. Leith, K. J. Kopecy, I. M. Chen et al. // *Blood*. – 1999. – Vol. 94, №3. – P. 1086–99.
 94. Leivonen, S.-K. Identification of miR-193b targets in breast cancer cells and systems biological analysis of their functional impact / S.-K. Leivonen, A. Rokka, P. Ostling et al. // *Mol. Cell. Proteomics*. – 2011. – Vol. 10, №7. – P. M110.005322.
 95. Leng, X.-F. Combined analysis of mRNA expression of ERCC1, BAG-1, BRCA1, RRM1 and TUBB3 to predict prognosis in patients with non-small cell lung cancer who received adjuvant chemotherapy / X.-F. Leng, M.-W. Chen, L. Xian et al. // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* – 2012. – Vol. 31, №1. – P. 25.
 96. Liu, D. Customized adjuvant chemotherapy based on biomarker examination may improve survival of patients completely resected for non-small-cell lung cancer / D. Liu, N. Nakashima, J. Nakano et al. // *Anticancer Res.* – 2017. – Vol. 37, №5. – P. 2501–2507.
 97. Lord, R. V. N. Low ERCC1 expression correlates with prolonged survival after cisplatin plus gemcitabine chemotherapy in non-small cell lung cancer / R. V. N. Lord, J. Brabender, D. Gandara et al. // *Clin. Cancer Res.* – 2002. – Vol. 8, №7. – P. 2286–91.

98. Lu, B. Topoisomerase I expression is associated with prognosis in postoperative non-small cell lung cancer patients / B. Lu, H. Zhang, T. Zhang et al. // *Thorac. Cancer.* – 2016. – Vol. 7, №4. – P. 486–494.
99. Magdeleinat, P. Surgical treatment of lung cancer invading the chest wall: results and prognostic factors / P. Magdeleinat, M. Alifano, C. Benbrahim et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2001. – Vol. 71, №4. – P. 1094–9.
100. Malottki, K. Problems of variable biomarker evaluation in stratified medicine research - a case study of ERCC1 in non-small-cell lung cancer / K. Malottki, S. Popat, J. J. Deeks et al. // *Lung Cancer.* – 2016. – Vol. 92. – P. 1–7.
101. Matsumura, T. Determinants of cisplatin and irinotecan activities in human lung adenocarcinoma cells: evidence of cisplatin accumulation and topoisomerase I activity / T. Matsumura, N. Takigawa, K. Kiura et al. // *In Vivo.* – 2005. – Vol. 19, №4. – P. 717–21.
102. Mazzone, F. Phase II trial of customized first line chemotherapy according to ERCC1 and RRM1 SNPs in patients with advanced non-small-cell lung cancer / F. Mazzone, F. L. Cecere, G. Meoni et al. // *Lung Cancer.* – 2013. – Vol. 82, №2. – P. 288–93.
103. Merritt, R. E. Lymph node evaluation achieved by open lobectomy compared with thoracoscopic lobectomy for N0 lung cancer / R. E. Merritt, C. D. Hoang, J. B. Shrager et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2013. – Vol. 96, №4. – P. 1171–7.
104. Miller, K. D. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016 / K. D. Miller, R. L. Siegel, C. C. Lin et al. // *CA. Cancer J. Clin.* – 2016. – Vol. 66, №4. – P. 271–289.
105. Miller, S. V. The experience of angioplastical surgery for non-small cell lung cancer / S. V. Miller, M. Y. Volkov, V. V. Evtushenko et al. // *Int. J. Appl. Fundam. Res.* – 2016. – Vol. 2, № 6-2. – P. 263-269.
106. Mini, E. Cellular pharmacology of gemcitabine / E. Mini, S. Nobili, B. Caciagli et al. // *Ann. Oncol.* – 2006. – Vol. 17, № 5. – P. v7–v12.
107. Mitchell, J. D. Clinical experience with carinal resection / J. D. Mitchell, D. J. Mathisen, C. D. Wright et al. // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 1999. – Vol. 117,

- №1. – P. 39–53.
108. Monzó, M. Paclitaxel resistance in non-small-cell lung cancer associated with beta-tubulin gene mutations / M. Monzó, R. Rosell, J. J. Sánchez et al. // *J. Clin. Oncol.* – 1999. – Vol. 17, №6. – P. 1786–93.
109. Morales-Espinosa, D. Pharmacogenomics in the treatment of lung cancer: an update / D. Morales-Espinosa, S. García-Román, N. Karachaliou, R. Rosell // *Pharmacogenomics.* – 2015. – Vol. 16, №15. – P. 1751–1760.
110. Nakanishi, Y. Expression of p53 and glutathione S-transferase-pi relates to clinical drug resistance in non-small cell lung cancer / Y. Nakanishi, M. Kawasaki, F. Bai et al. // *Oncology* – 1999. – Vol. 57, №4. – P. 318–23.
111. Nie, X. The tailored chemotherapy based on RRM1 immunohistochemical expression in patients with advanced non-small cell lung cancer / X. Nie, G. Cheng, B. Ai, S. Zhang // *Cancer Biomarkers.* – 2013. – Vol. 13, №6. – P. 433–440.
112. Oguri, T. The determinants of sensitivity and acquired resistance to gemcitabine differ in non-small cell lung cancer: a role of ABCC5 in gemcitabine sensitivity / T. Oguri, H. Achiwa, S. Sato et al. // *Mol. Cancer Ther.* – 2006. – Vol. 5, №7. – P. 1800–1806.
113. Okuda, K. Expression of excision repair cross-complementation group 1 and class III β -tubulin predict survival after chemotherapy for completely resected non-small cell lung cancer / K. Okuda, H. Sasaki, C. Dumontet et al. // *Lung Cancer.* – 2008. – Vol. 62, №1. – P. 105–112.
114. Olaussen, K. A. DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy / K. A. Olaussen, A. Dunant, P. Fouret et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2006. – Vol. 355, №10. – P. 983–991.
115. Olaussen, K. A. Predictors of chemotherapy efficacy in non-small-cell lung cancer: a challenging landscape / K. A. Olaussen, S. Postel-Vinay // *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* – 2016. – Vol. 27, №11. – P. 2004–2016.
116. Onugha, O. I. Surgical treatment of lung cancer / O. I. Onugha, J. M. Lee // *Cancer Treat. Res.* – 2016. – Vol. 170. – P. 77–104.

117. Ota, S. Immunohistochemical expression of BCRP and ERCC1 in biopsy specimen predicts survival in advanced non-small-cell lung cancer treated with cisplatin-based chemotherapy / S. Ota, G. Ishii, K. Goto et al. // *Lung Cancer*. – 2009. – Vol. 64, №1. – P. 98–104.
118. Paul, I. Acquired differential regulation of caspase-8 in cisplatin-resistant non-small-cell lung cancer / I. Paul, A. D. Chacko, I. Stasik et al. // *Cell Death Dis.* – 2012. – Vol. 3, №12. – P. e449.
119. Persijn van Meerten, E. L. RECIST revised: implications for the radiologist. A review article on the modified RECIST guideline / E. L. van Persijn van Meerten, H. Gelderblom, J. L. Bloem // *Eur. Radiol.* – 2010. – Vol. 20, №6. – P. 1456–1467.
120. Pignon, J.-P. Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group. / J.-P. Pignon, H. Tribodet, G. V Scagliotti et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – Vol. 26, №21. – P. 3552–9.
121. Pischik, V.G. Technical difficulties and extending the indications for VATS lobectomy / V. G. Pischik // *J. Thorac. Dis.* – 2014. – Vol. 6, №Suppl 6. – P. S623-30.
122. Pisters, K. M. W. 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 / K. M. W. Pisters, E. Vallières, J. J. Crowley et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 28, №11. – P. 1843–9.
123. Postel-Vinay, S. ERCC1 as predictor of platinum benefit in non-small-cell lung cancer / S. Postel-Vinay, J.-C. Soria // *J. Clin. Oncol.* – 2017. – Vol. 35, №4. – P. 384–386.
124. Postmus, P. E. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up / P. E. Postmus, K. M. Kerr, M. Oudkerk et al. // *Ann. Oncol.* – 2017. – Vol. 28, Suppl. 4. – P. iv1-iv21.
125. Quinn, J. E. BRCA1 functions as a differential modulator of chemotherapy-induced apoptosis / J. E. Quinn, R. D. Kennedy, P. B. Mullan et al. // *Cancer Res.* – 2003. – Vol. 63, №19. – P. 6221–8.

126. Rami-Porta, R. Complete resection in lung cancer surgery: proposed definition / R. Rami-Porta, C. Wittekind, P. Goldstraw // *Lung Cancer*. – 2005. – Vol. 49, №1. – P. 25–33.
127. Reardon, E.S. Extended resections of non-small cell lung cancers invading the aorta, pulmonary artery, left atrium, or esophagus / E. S. Reardon, D. S. Schrupp // *Thorac. Surg. Clin.* – 2014. – Vol. 24, №4. – P. 457–464.
128. Ren, S.-X. Individualized chemotherapy in advanced NSCLC patients based on mRNA levels of BRCA1 and RRM1. / S.-X. Ren, A.-W. Li, S.-W. Zhou et al. // *Chin. J. Cancer Res.* – 2012. – Vol. 24, №3. – P. 226–31.
129. Rinaldi, M. First line chemotherapy in advanced or metastatic NSCLC / M. Rinaldi, C. Cauchi, C. Gridelli // *Ann. Oncol.* – 2006. – Vol. 17, Suppl. 5. – P. v64–v67.
130. Ripley, R. T. Role of induction therapy: surgical resection of non-small cell lung cancer after induction therapy / R. T. Ripley, V. W. Rusch // *Thorac. Surg. Clin.* – 2013. – Vol. 23, №3. – P. 273–85.
131. Robinson, L. A. Treatment of non-small cell lung cancer-stage IIIA: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition) / L. A. Robinson, J. C. Ruckdeschel, H. Wagner et al. // *Chest*. – 2007. – Vol. 132, Suppl. 3. – P. 243S–265S.
132. Rosell, R. Ribonucleotide reductase messenger RNA expression and survival in gemcitabine/cisplatin-treated advanced non-small cell lung cancer patients / R. Rosell, K. D. Danenberg, V. Alberola et al. // *Clin. Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10, №4. – P. 1318–25.
133. Rosell, R. Gene expression as a predictive marker of outcome in stage IIB-III A-III B non-small cell lung cancer after induction gemcitabine-based chemotherapy followed by resectional surgery / R. Rosell, E. Felip, M. Taron et al. // *Clin. Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10, №12, Pt 2. – P. 4215s–4219s.
134. Rosell, R. A randomized trial comparing preoperative chemotherapy plus surgery with surgery alone in patients with non-small-cell lung cancer / R. Rosell, J. Gomez-Codina, C. Camps et al. // *N. Engl. J. Med.* – 1994. – Vol. 330, №3. – P.

- 153–158.
135. Rosell, R. Customized treatment in non-small-cell lung cancer based on EGFR mutations and BRCA1 mRNA expression / R. Rosell, L. Perez-Roca, J. J. Sanchez et al. // *PLoS One*. – 2009. – Vol. 4, №5. – P. e5133.
136. Rosell, R. Transcripts in pretreatment biopsies from a three-arm randomized trial in metastatic non-small-cell lung cancer / R. Rosell, G. Scagliotti, K. D. Danenberg et al. // *Oncogene*. – 2003. – Vol. 22, №23. – P. 3548–3553.
137. Rosell, R. BRCA1: a novel prognostic factor in resected non-small-cell lung cancer / R. Rosell, M. Skrzypski, E. Jassem et al. // *PLoS One*. – 2007. – Vol. 2, №11. – P. e1129.
138. Roth, J. A. A randomized trial comparing perioperative chemotherapy and surgery with surgery alone in resectable stage IIIA non-small-cell lung cancer / J. A. Roth, F. Fossella, R. Komaki et al. // *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* – 1994. – Vol. 86, №9. – P. 673–680.
139. Salati, M. The use of the Thoracic Morbidity and Mortality system for the internal analysis of performance: a case-matched temporal audit / M. Salati, C. Pompili, M. Refai et al. // *Eur. J. Cardio-Thoracic Surg.* – 2014. – Vol. 45, №5. – P. 859–863.
140. Scagliotti, G. V. Randomized study of adjuvant chemotherapy for completely resected stage I, II, or IIIA non-small-cell lung cancer / G. V. Scagliotti, R. Fossati, V. Torri et al. // *CancerSpectrum Knowl. Environ.* – 2003. – Vol. 95, №19. – P. 1453–1461.
141. Schil, P. E. Van. Is there a role for surgery in stage IIIA-N2 non-small cell lung cancer? / P. E. Van Schil, M. D. E. Waele, J. M. Hendrik, P. R. Lauwers // *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*. – 2008. – Vol. 11, №5. – P. 615–21.
142. Schiller, J. H. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer / J. H. Schiller, D. Harrington, C. P. Belani et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2002. – Vol. 346, №2. – P. 92–98.
143. Schirren, J. Pneumonectomy: an alternative to sleeve resection in lung cancer patients? / J. Schirren, M. Schirren, M. Passalacqua, S. Bölükbas // *Chirurg*. – 2013. – Vol. 84, №6. – P. 474–8.

144. Sève, P. Chemoresistance in non-small cell lung cancer / P. Sève, C. Dumontet // *Curr. Med. Chem. Agents.* – 2005. – Vol. 5, №1. – P. 73–88.
145. Sève, P. Expression of class III β -tubulin is predictive of patient outcome in patients with non-small cell lung cancer receiving vinorelbine-based chemotherapy / P. Sève, S. Isaac, O. Trédan et al. // *Clin. Cancer Res.* – 2005. – Vol. 11, №15. – P. 5481-5486.
146. Sève, P. Class III beta-tubulin expression in tumor cells predicts response and outcome in patients with non-small cell lung cancer receiving paclitaxel / P. Sève, J. Mackey, S. Isaac et al. // *Mol. Cancer Ther.* – 2005. – Vol. 4, №12. – P. 2001–7.
147. Shi, Y. Prognostic and predictive values of pERK1/2 and pAkt-1 expression in non-small cell lung cancer patients treated with adjuvant chemotherapy / Y. Shi, L. Chen, J. Li et al. // *Tumor Biol.* – 2011. – Vol. 32, №2. – P. 381–390.
148. Siddik, Z. H. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance / Z. H. Siddik // *Oncogene.* – 2003. – Vol. 22, №47. – P. 7265–7279.
149. Simon, G. Feasibility and efficacy of molecular analysis-directed individualized therapy in advanced non-small-cell lung cancer / G. Simon, A. Sharma, X. Li et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2007. – Vol. 25, №19. – P. 2741–6.
150. Song, W.-A. Survival benefit of neoadjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer: an updated meta-analysis of 13 randomized control trials / W.-A. Song, N.-K. Zhou, W. Wang et al. // *J. Thorac. Oncol.* – 2010. – Vol. 5, №4. – P. 510–516.
151. Soo, R. A. Distribution of gemcitabine pathway genotypes in ethnic Asians and their association with outcome in non-small cell lung cancer patients / R. A. Soo, L. Z. Wang, S. S. Ng et al. // *Lung Cancer.* – 2009. – Vol. 63, №1. – P. 121–127.
152. Souglakos, J. Ribonucleotide reductase subunits M1 and M2 mRNA expression levels and clinical outcome of lung adenocarcinoma patients treated with docetaxel/gemcitabine / J. Souglakos, I. Boukovinas, M. Taron et al. // *Br. J. Cancer.* – 2008. – Vol. 98, №10. – P. 1710–1715.
153. Spaggiari, L. Extended pneumonectomy with partial resection of the left atrium, without cardiopulmonary bypass, for lung cancer / L. Spaggiari, M. D’Aiuto, G. Veronesi et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2005. – Vol. 79, №1. – P. 234–40.

154. Stewart, D. J. Tumor and host factors that may limit efficacy of chemotherapy in non-small cell and small cell lung cancer / D. J. Stewart // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 2010. – Vol. 75, №3. – P. 173–234.
155. Strauss, G.M. Adjuvant paclitaxel plus carboplatin compared with observation in stage IB non-small-cell lung cancer: CALGB 9633 with the Cancer and Leukemia Group B, Radiation Therapy Oncology Group, and North Central Cancer Treatment Group Study Groups / G. M. Strauss, J. E. Herndon, M. A. Maddaus et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – Vol. 26, №31. – P. 5043–51.
156. Strauss, G. M. Neoadjuvant chemotherapy and radiotherapy followed by surgery in stage IIIA non-small-cell carcinoma of the lung: report of a Cancer and Leukemia Group B phase II study / G. M. Strauss, J. E. Herndon, D. D. Sherman et al. // *J. Clin. Oncol.* – 1992. – Vol. 10, №8. – P. 1237–44.
157. Stuckler, D. RLIP76 transports vinorelbine and mediates drug resistance in non-small cell lung cancer / D. Stuckler, J. Singhal, S. S. Singhal et al. // *Cancer Res* – 2005. – Vol. 65, №3. – P. 991–8.
158. Sun, S. Prognostic significance of the mRNA expression of ERCC1, RRM1, TUBB3 and TYMS genes in patients with non-small cell lung cancer / S. Sun, W. Shi, Z. Wu et al. // *Exp. Ther. Med.* – 2015. – Vol. 10, №3. – P. 937–941.
159. Takenaka, T. Combined evaluation of Rad51 and ERCC1 expressions for sensitivity to platinum agents in non-small cell lung cancer / T. Takenaka, I. Yoshino, H. Kouso et al. // *Int. J. Cancer.* – 2007. – Vol. 121, №4. – P. 895–900.
160. Taron, M. BRCA1 mRNA expression levels as an indicator of chemoresistance in lung cancer / M. Taron, R. Rosell, E. Felip et al. // *Hum. Mol. Genet.* – 2004. – Vol. 13, №20. – P. 2443–2449.
161. Tkaczuk, K. Update on taxane development: new analogs and new formulations / K. Tkaczuk, J. Yared // *Drug Des. Devel. Ther.* – 2012. – Vol. 6. – P. 371.
162. Varela, G. Surgical management of advanced non-small cell lung cancer / G. Varela, P. A. Thomas // *J. Thorac. Dis.* – 2014. – Vol. 6, Suppl. 2. – P. S217-23.
163. Venuta, F. Reconstruction of the pulmonary artery for lung cancer: long-term results / F. Venuta, A. M. Ciccone, M. Anile et al. // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* –

2009. – Vol. 138, №5. – P. 1185–1191.
164. Verdier-Pinard, P. Analysis of tubulin isotypes and mutations from taxol-resistant cells by combined isoelectrofocusing and mass spectrometry / P. Verdier-Pinard, F. Wang, L. Martello et al. // *Biochemistry*. – 2003. – Vol. 42, №18. – P. 5349–57.
165. Vielva, L. R. Translational lung cancer research / L. R. Vielva, M. W. Jaen, J. A. M. Alcácer, M. C. Cardona. – AME Publishing Company, 2014. – 95-99 p.
166. Vos, S. M. All tangled up: how cells direct, manage and exploit topoisomerase function / S. M. Vos, E. M. Tretter, B. H. Schmidt, J. M. Berger // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2011. – Vol. 12, №12. – P. 827–841.
167. Vulsteke, C. Genetic variability in the multidrug resistance associated protein-1 (ABCC1/MRP1) predicts hematological toxicity in breast cancer patients receiving (neo-)adjuvant chemotherapy with 5-fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide (FEC) / C. Vulsteke, D. Lambrechts, A. Dieudonné et al. // *Ann. Oncol.* – 2013. – Vol. 24, №6. – P. 1513–1525.
168. Wang, J. Enhanced subunit interactions with gemcitabine-5'-diphosphate inhibit ribonucleotide reductases / J. Wang, G. J. S. Lohman, J. Stubbe // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2007. – Vol. 104, №36. – P. 14324–9.
169. Wang, Q. Expression of P-gp, MRP, LRP, GST- π and TopoII α and intrinsic resistance in human lung cancer cell lines / Q. Wang, J. Zhang, L. Zhang et al. // *Oncol. Rep.* – 2011. – Vol. 26, №5. – P. 1081–9.
170. Wang, T.-L. Association of topoisomerase II (TOP2 α) and dual-specificity phosphatase 6 (DUSP6) single nucleotide polymorphisms with radiation treatment response and prognosis of lung cancer in han chinese. / T.-L. Wang, Y.-W. Ren, H.-T. Wang et al. // *Med. Sci. Monit.* – 2017. – Vol. 23. – P. 984–993.
171. Watzka, S. B. Surgical treatment of non-small-cell lung cancer / S. B. Watzka, T. Krajc, M. R. Mueller // *HAMDAN Med. J.* – 2016. – Vol. 9, №1. – P. 57-67.
172. Winton, T. Vinorelbine plus cisplatin vs. observation in resected non-small-cell lung cancer / T. Winton, R. Livingston, D. Johnson et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 352, №25. – P. 2589–2597.
173. Woodard, G. A. The latest in surgical management of stage IIIA non-small cell

- lung cancer: video-assisted thoracic surgery and tumor molecular profiling / G. A. Woodard, D. M. Jablons // *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book.* – 2015. – P. e435-41.
174. Xu, H. Structures of eukaryotic ribonucleotide reductase I define gemcitabine diphosphate binding and subunit assembly / H. Xu, C. Faber, T. Uchikiet al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2006. – Vol. 103, №11. – P. 4028–33.
175. Yamashita, M. Pulmonary angioplastic procedure for lung cancer surgery / M. Yamashita, E. Komori, S. Sawada et al. // *Gen. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2010. – Vol. 58, №1. – P. 19–24.
176. Yan, S. Topoisomerase II alpha expression and the benefit of adjuvant chemotherapy for postoperative patients with non-small cell lung cancer / S. Yan, J. Shun-Chang, C. Li et al. // *BMC Cancer.* – 2010. – Vol. 10, №1. – P. 621.
177. Yang, X. Video-assisted thoracic surgery (VATS) compares favorably with thoracotomy for the treatment of lung cancer: a five-year outcome comparison / X. Yang, S. Wang, J. Qu // *World J. Surg.* – 2009. – Vol. 33, №9. – P. 1857–1861.
178. Yokomise, H. Chemotherapy followed by surgery on the basis of biomarker examination for patients with advanced non-small cell lung cancer / H. Yokomise, D. Liu, S. Ishikawa et al. // *Anticancer Res.* – 2013. – Vol. 33, №12. – P. 5597–5602.
179. Yoshino, I. Unfavorable prognosis of patients with stage II non-small cell lung cancer associated with macroscopic nodal metastases / I. Yoshino, R. Nakanishi, T. Osaki et al. // *Chest.* – 1999. – Vol. 116, №1. – P. 144–149.
180. Zeng-Rong, N. Elevated DNA repair capacity is associated with intrinsic resistance of lung cancer to chemotherapy / N. Zeng-Rong, J. Paterson, L. Alpert et al. // *Cancer Res.* – 1995. – Vol. 55, №21. – P. 4760–4.
181. Zeng, C. RRM1 expression is associated with the outcome of gemcitabine-based treatment of non-small cell lung cancer patients—a short report / C. Zeng, W. Fan, X. Zhang // *Cell. Oncol.* – 2015. – Vol. 38, №4. – P. 319–325.
182. Zhang, Q. A prospective study of biomarker-guided chemotherapy in patients with non-small cell lung cancer / Q. Zhang, X. Zhu, L. Zhang et al. // *Cancer*

- Chemother. Pharmacol. – 2014. – Vol. 74, №4. – P. 839–46.
183. Zhang, Y. High expression levels of class III β -tubulin in resected non-small cell lung cancer patients are predictive of improved patient survival after vinorelbine-based adjuvant chemotherapy / Y. Zhang, H. Yang, J. Liu et al. // *Oncol. Lett.* – 2013. – Vol. 6, №1. – P. 220–226.
184. Zheng, Y. Neoadjuvant therapy in non-small cell lung cancer / Y. Zheng, M. T. Jaklitsch, R. Bueno // *Surg. Oncol. Clin. N. Am.* – 2016. – Vol. 25, №3. – P. 567–584.
185. Zhong, C. Chemotherapy plus best supportive care versus best supportive care in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials / C. Zhong, H. Liu, L. Jiang et al. // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, №3. – P. e58466.
186. Zhong, C. Clinical outcomes of thoracoscopic lobectomy for patients with clinical N0 and pathologic N2 non-small cell lung cancer / C. Zhong, F. Yao, H. Zhao et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2013. – Vol. 95, №3. – P. 987–992.