

На правах рукописи



Родионов Евгений Олегович

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

14.01.12 – онкология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск – 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

Научный руководитель: Миллер Сергей Викторович,
доктор медицинских наук

Научный консультант: Литвяков Николай Васильевич,
доктор биологических наук

**Официальные
оппоненты:** Зуков Руслан Александрович,
доктор медицинских наук, Федеральное
государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Красноярский
государственный медицинский университет имени
профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения Российской
Федерации, кафедра онкологии и лучевой терапии с
курсом последипломного образования, заведующий
кафедрой

Авдалян Ашот Меружанович,
доктор медицинских наук, Федеральное
государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский
центр онкологии имени Н. Н. Блохина»
Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Алтайский филиал, лаборатория
исследований молекулярно-генетических
характеристик опухолей, заведующий

Ведущая организация: Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П. А. Герцена – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва).

Защита состоится «___» _____ 201__ года в __. __ часов на заседании диссертационного совета Д 002.279.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» по адресу: г. Томск, пер. Кооперативный 5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта <http://tnimc.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 201__ года

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор



Фролова И.Г.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

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 (Лазарев А.Ф., 2007).

Местнораспространенная форма или III стадия заболевания встречается у 30 % пациентов с немелкоклеточным раком легкого (Трахтенберг А.Х., 2012). Традиционно местнораспространенный рак разделяют на IIIA стадию с 24 % пятилетней выживаемостью и IIIB стадию с неблагоприятным прогнозом и 9 % пятилетней выживаемостью (Chansky K. et al., 2009; Postmus P.E. et al., 2018).

Лечение III стадии НМРЛ остается сложной и противоречивой задачей. 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 (Spaggiari L. et al., 2005). Условная радикальность хирургического вмешательства при III стадии НМРЛ обусловлена высокой вероятностью наличия субклинических метастазов, поэтому в лечении данной категории больных требуется использование системной химиотерапии (Барчук А.С., 2003; Rinaldi M. et al., 2006).

Вопреки огромным усилиям, направленным на разработку новых схем химиотерапии, терапевтические результаты остаются неудовлетворительными (Schiller J.H. et al., 2002). 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 (Gridelli C. et al., 2010; Zhang Q. et al., 2014).

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*, *ERCCL1*, *TOP1*, *TOP2α*, *TUBB3*, *TYMS* и *ABCC5* (Al-Sarraf N. et al., 2008; Ikeda N. et al., 2009; Huang Z. et al., 2015; Jakobsen J.N. et al., 2015; Kim E. et al., 2016; Olaussen K.A. et al., 2016).

Таким образом, представляется перспективным определение генов монорезистентности в опухоли НМРЛ с целью персонализации конвенциональной химиотерапии, что позволит повысить эффективность химиотерапии и/или уменьшить побочные явления проводимого лекарственного лечения.

Степень разработанности темы исследования

Проблематике повышения эффективности лекарственного лечения НМРЛ, основанного на определении генов монорезистентности, посвящены работы многих авторов (Azuma K. et al., 2007; Bepler G. et al., 2008; Kang C.H. et al., 2010; Wang Q. et al., 2011; Dong X. et al., 2014; Jakobsen J.N., 2015; Kim E., 2016; Olaussen K.A., 2016). Необходимо отметить, что отсутствует общепринятая методика определения генов монорезистентности в ткани опухоли (Jakobsen J.N., 2015), большинство научных исследований носят ретроспективный характер, а изучение взаимосвязи уровней экспрессии генов монорезистентности с выживаемостью проводилось у больных с местнораспространенным нерезектабельным или метастатическим раком легкого (Booton R. et al., 2007; Gao Z. et al., 2011; Bepler G. et al., 2013; Sun S. et al., 2015). Малочисленные исследования в этом направлении проведены у больных операбельным раком легкого (Fujii T. et al., 2008; Huang Z. et al., 2015; Liu D. et al., 2017), но полученные данные разноречивы и учитывают экспрессию единичных генов монорезистентности.

Цель исследования

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

Задачи исследования

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

2. Изучить непосредственную эффективность неoadьювантной 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 неoadьювантной 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 адьювантной химиотерапии.

Научная новизна

Разработан новый способ комбинированного лечения немелкоклеточного рака легкого III стадии, включающий проведение неoadьювантной химиотерапии с последующим радикальным хирургическим вмешательством и персонализированную адьювантную 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 работы

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.

Методология и методы исследования

В основе методологии диссертационной работы – современные теоретические и практические представления о развитии резистентности злокачественных новообразований к проводимому лекарственному лечению и методах ее преодоления.

Диссертационное исследование выполнялось в несколько этапов с использованием диагностических, клинических,

морфологических, молекулярно-генетических, аналитических и статистических методов.

На первом этапе проведена оценка эффективности неоадьювантной химиотерапии, частота и характер осложнений, возникающих у больных НМРЛ на этапах комбинированного лечения. На втором этапе определены уровни экспрессии генов монорезистентности методом ПЦР в режиме реального времени в опухолевой ткани НМРЛ после проведения неоадьювантной химиотерапии, на основании которых больным основной группы назначалась персонализированная адьювантная химиотерапия. Далее была изучена трехлетняя безрецидивная и общая выживаемость больных исследуемых групп. Также была изучена связь экспрессии генов монорезистентности с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью, в результате чего определены значимые маркеры для назначения персонализированной адьювантной химиотерапии.

Положения, выносимые на защиту

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

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

Степень достоверности результатов

Достоверность проведенного исследования подтверждается достаточным числом больных основной и контрольной групп, высоким методологическим уровнем с использованием современных информативных методов исследования: клинических, диагностических, морфологических и молекулярно-генетических. Обоснованность полученных результатов подтверждается корректной статистической обработкой материала с использованием методов описательной, параметрической и непараметрической статистики.

Апробация материалов диссертации

Материалы диссертации доложены и обсуждены 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.).

Внедрение результатов исследования в практику

Научные положения и практические рекомендации, сформулированные в диссертации, внедрены в клиническую практику НИИ онкологии Томского НИМЦ.

Полученные результаты исследования используются в процессе обучения студентов и клинических ординаторов на кафедре онкологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

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 разработке дизайна и определения методологии исследования, 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 и оформлении диссертации.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 115 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав (аналитического обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка условных сокращений и указателя литературы, включающего 186 источников, из них 13 отечественных и 173 иностранных. Работа содержит 11 таблиц и 11 рисунков.

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. Лечение начиналось после полного обследования пациента и морфологической верификации диагноза.

Всем больным на первом этапе комбинированного лечения проводилось 2 курса неоадъювантной химиотерапии по схеме винорелбин/карбоплатин. Интервал между курсами химиотерапии составлял 3 недели. 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.

Далее больные были распределены на две группы. Основную группу составил 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, доксорубин, паклитаксел. Контрольную группу составил 31 пациент, которым послеоперационная химиотерапия проводилась по схеме винорелбин/карбоплатин.

Средний возраст больных составил 58,1 лет (95 % ДИ 56,6-59,5 лет). В основной группе мужчин было 28 (90,3 %), женщин - 3 (9,7 %). В контрольной группе мужчин было 26 (83,9 %), женщин - 5 (16,1 %). Отличия сравниваемых групп больных по полу оказались статистически не значимыми ($p=0,707$).

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

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 %). 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 %). Отличия по гистологическому строению опухолей в группах больных оказались статистически не значимыми ($F=5,806$, $p=0,057$).

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

Пневмонэктомии выполнены 20 (32,3 %) больным, а резекции легких в объеме лобэктомий – 36 (58,1 %) больным, билобэктомий – 6 (9,7 %) пациентам. Различия по объемам операций в группах больных оказались статистически не значимы ($F=6,078$, $p=0,056$).

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.

При изучении уровней экспрессии генов монорезистентности у больных контрольной группы нами были определены пороговые значения и показания к назначению адьювантной 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;
- *TOP2a* более 4 - назначается доксорубин;
- *BRCA1* более 1,5 – назначается паклитаксел.

Для оценки непосредственного ответа опухоли на предоперационную химиотерапию использовались критерии RECIST 1.1. В оценке лечебного патоморфоза после операции использовалась схема Г.А. Лавниковой. Течение послеоперационного периода и послеоперационные осложнения оценивались в соответствии с классификацией ТММ (Thoracic Morbidity and Mortality System). Осложнения в процессе периоперационной химиотерапии оценивались с помощью стандартных критериев STCAE v4.03, 2010 г.

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 и помещались в раствор RNeasy lysis buffer (Qiagen, USA). 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 монорезистентности *ABCC5*, *BRCA1*, *ERCC1*, *RRM1*, *TOP1*, *TOP2a*, *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.

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 (Pfaffl M.W., 2001). В качестве калибратора использовалась РНК из нормальной ткани легкого. Таким образом, в качестве результата использовалось различие в экспрессии генов относительно *GAPDH* и нормальной ткани легкого.

Статистические методы

В работе использовались стандартные методы описательной, параметрической и непараметрической статистики. Результаты исследования обрабатывались на персональном компьютере с использованием лицензионной статистической программы «IBM SPSS Statistics» версии 22.0. Для анализа выживаемости использовались кривые, 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 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эффективность и токсичность неoadьювантной химиотерапии

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 % случаев, 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. Алопеция при проведении НАХТ по схеме винорелбин/карбоплатин составила 6,5 %.

Течение послеоперационного периода и послеоперационные осложнения

Осложнения развились у 19 больных (всего 22 осложнения) основной и контрольной групп (30,6 %). Различия 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.

Лечебный патоморфоз при проведении неоадьювантной химиотерапии

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 ЛПП 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 % случаях (у 25/31 пациентов). В 16/31 случаях (51,6 %) отмечен патоморфоз II степени, а ЛПП I степени - у 9/31 пациентов – 29,0 %. Статистически значимых различий получено не было ($F=0,643$, $p=1,000$). При сопоставлении эффективности предоперационной химиотерапии с лечебным патоморфозом в обеих группах отмечено, что уменьшение размера опухоли не всегда коррелирует с повреждением ее на микроскопическом уровне.

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

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 *TOP2α* 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 *TOP2α* ($p=0,005$, $r=0,442$).

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 *TOP2α* 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 клинико-морфологическими параметрами, эффективностью неoadьювантной химиотерапии и лечебным патоморфозом в опухоли после НАХТ.

Послеоперационная химиотерапия и оценка токсичности в сравниваемых группах

В основной группе по данным молекулярно-генетического анализа смена режима адьювантной 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.

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 %. Частота развития негематологической токсичности (преимущественно гастроинтестинальной – 19,3 %, нефротоксичности – 3,2 %, алопеции – 17,7 %) статистически значимо не превышала частоту подобных осложнений при неoadьювантном 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 НПВП.

Отдаленные результаты комбинированного лечения больных НМРЛ III стадии

Период наблюдения за больными составил от 4 до 76 месяцев. В основной группе прогрессирование заболевания наблюдалось у 6 (19,4 %) больных, в контрольной группе - у 15 больных (48,4 %).

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: Log-Rank 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: Log-Rank 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: Log-Rank test $\chi^2=4,196$, $p=0,041$ (рисунок 1).

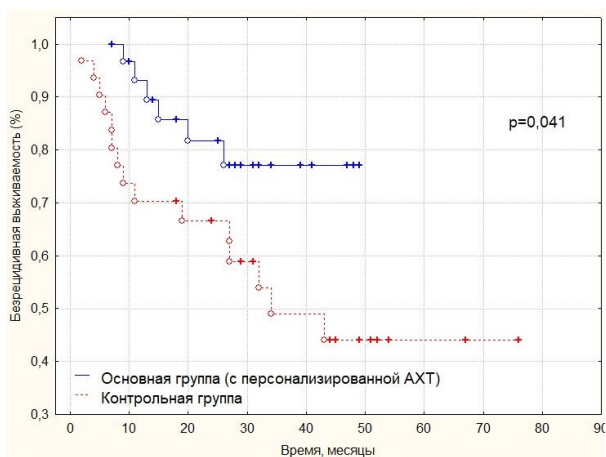


Рисунок 1 – Анализ безрецидивной выживаемости в исследуемых группах по методу Каплана-Майера

Общая выживаемость в основной группе составила 87,1 %, а в группе контроля – 67,7 % (OR=2,266; 95 % ДИ 0,794 - 6,4681). Статистически не значимые различия (Logrank test $\chi^2=2,081$, $p=0,149$) можно объяснить малым сроком наблюдения за больными.

Далее была оценена связь лимфогенного метастазирования с безрецидивной выживаемостью. При метастатическом поражении бронхопульмональных и перибронхиальных лимфоузлов (N1) выявлено статистически значимое улучшение БРВ при проведении персонализированного лечения на 41,3 % (OR=5,378; 95 % ДИ 1,813 – 15,952), Log-Rank test $\chi^2=6,182$, $p=0,013$ (рисунок 2).

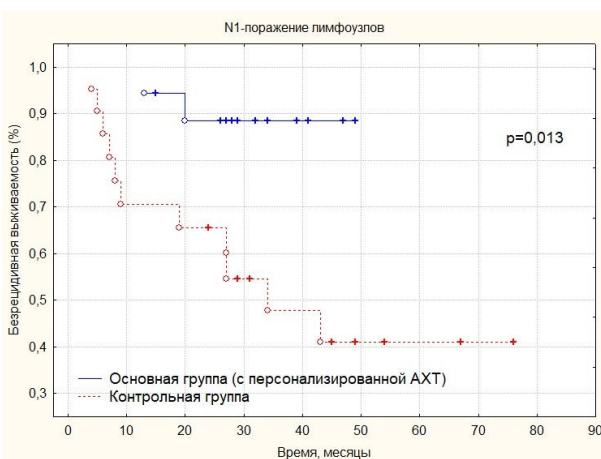


Рисунок 2 – Анализ безрецидивной выживаемости в исследуемых группах при N1-поражении лимфоузлов по методу Каплана-Майера

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.

Связь экспрессии генов монорезистентности с выживаемостью больных НМРЛ III стадии

В подгруппе пациентов с наличием/отсутствием гематогенных метастазов и рецидивов средние значения уровней экспрессии исследуемых генов монорезистентности статистически значимых различий не имели ($p>0,05$).

Было проведено сравнение выживаемости больных НМРЛ в исследуемых группах в зависимости от экспрессии генов монорезистентности и назначенной схемы химиотерапии с использованием метода Каплана-Майера.

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 $\chi^2=3,992$, $p=0,046$). При назначении винорелбина при уровне *TUBB3* 0,6-2,8 безрецидивная выживаемость составила 92,3 %, а при уровне *TUBB3* менее 0,6 и более 2,8 – 50 % (Log-Rank test $\chi^2=5,741$, $p=0,013$) (рисунок 3).

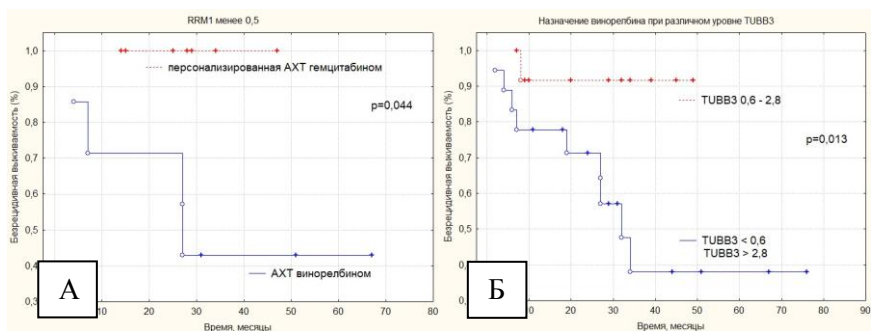


Рисунок 3 – Безрецидивная выживаемость больных НМРЛ в зависимости от назначаемой схемы АХТ и уровней экспрессии генов *RRM1* (А) и *TUBB3* (Б) в опухоли легкого после НАХТ

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.

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.

Выводы

1. Разработан и клинически апробирован способ комбинированного лечения немелкоклеточного рака легкого III стадии, включающий проведение неoadъювантной химиотерапии по схеме винорелбин/карбоплатин с последующим радикальным хирургическим вмешательством и персонализированную адъювантную химиотерапию, выбор схемы которой зависит от уровня экспрессии генов монорезистентности *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2α*, *TUBB3*, *TYMS* и *ABCC5* в опухолевой ткани в операционном материале, определенных методом ПЦР в режиме реального времени.

2. Общая эффективность неoadъювантной 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 ($r=0,279$), *TOP2α* и *ABCC5* с лимфогенным метастазированием ($r=0,404$ и $r=0,417$ соответственно), и *TOP2α* 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 адъювантной 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 адьювантной химиотерапии только гены *RRM1* и *TUBB3*.

Практические рекомендации

1. Больным немелкоклеточным раком легкого III стадии показано проведение комбинированного лечения, включающего 2 курса неадьювантной химиотерапии по схеме винорелбин/карбоплатин с последующим радикальным оперативным вмешательством и 3 курса персонализированной адьювантной 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 работ, опубликованных по теме диссертации

1. Родионов, Е.О. Экспрессия генов множественной лекарственной устойчивости и монорезистентности при немелкоклеточном раке легкого [Текст] / Е.Л. Юмов, М.М. Цыганов, Н.В. Литвяков, Т.В. Полищук, С.В. Миллер, Е.О. Родионов, С.А. Тузиков // Сибирский онкологический журнал. - 2014. - № 1. - С. 16-22.

2. Родионов, Е.О. Химиотерапия в комбинированном лечении местнораспространенного немелкоклеточного рака легкого [Текст] / Е.Л. Юмов, С.В. Миллер, Н.В. Литвяков, Т.В. Полищук, С.А. Тузиков, О.В. Черемисина, В.Е. Гольдберг, Е.О. Родионов // Сибирский онкологический журнал. - 2014. - № 2. - С. 9-13.

3. Родионов, Е.О. Обоснование использования экспрессионных маркеров для персонализации химиотерапии рака легкого [Текст] / М.М. Цыганов, Е.О. Родионов, Н.В. Литвяков, С.В. Миллер // Антибиотики и химиотерапия. - 2015. - № 9-10. - С.34-42.

4. Родионов, Е.О. Персонализированный подход к послеоперационной химиотерапии в комбинированном лечении

немелкоклеточного рака легкого (клиническое наблюдение) [Текст] / Е.О. Родионов, С.В. Миллер, М.М. Цыганов, О.В. Черемисина, С.А. Тузиков, Н.В. Литвяков, И.Г. Фролова, С.А. Величко, П.И. Лукьяненко, Т.В. Полищук // Сибирский онкологический журнал. - 2016. – Т. 15, № 3 - С. 97-101.

5. Родионов, Е.О. Оценка прогностической значимости экспрессии генов монорезистентности в опухоли больных немелкоклеточным раком легкого после предоперационной химиотерапии [Текст] / М.М. Цыганов, Е.О. Родионов, И.В. Дерюшева, С.В. Миллер, М.К. Ибрагимова, Л.Ф. Писарева, Ю.Г. Кжышкова, С.А. Тузиков, Н.В. Чердынцева, Н.В. Литвяков // Вопросы онкологии. - 2017. - Т. 63, № 1. - С. 122-127.

6. Родионов, Е.О. Индивидуализация послеоперационной химиотерапии в комбинированном лечении немелкоклеточного рака легкого [Текст] / Е.О. Родионов, С.В. Миллер, М.М. Цыганов, О.В. Черемисина, С.А. Тузиков, Н.В. Литвяков, П.И. Лукьяненко // Терапевт. - 2016. - № 10. - С. 36-41.

7. Родионов, Е.О. Комбинированное лечение немелкоклеточного рака легкого II-III стадий с персонификацией адьювантной химиотерапии [Текст] / Е.О. Родионов, М.М. Цыганов, И.В. Дерюшева // Сборник материалов Всероссийской конференции молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н.В. Васильева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии», Томск, 22 мая 2015 г. // Сибирский онкологический журнал. – 2015. – Прил. 1. – С. 69-70.

8. Родионов, Е.О. Улучшение показателей выживаемости больных немелкоклеточным раком легкого при персонифицированном назначении адьювантной химиотерапии [Текст] / М.М. Цыганов, Е.О. Родионов, И.В. Дерюшева, С.В. Миллер, С.А. Тузиков, Н.В. Литвяков // Сборник материалов конференции «Белые ночи-2015: первый Российский онкологический научно-образовательный форум с международным участием, Санкт-Петербург, 2015. - С.489.

9. Родионов, Е.О. Персонализированная адьювантная химиотерапия в комбинированном лечении немелкоклеточного рака легкого III стадии [Текст] / Е.О. Родионов, М.М. Цыганов, С.В. Миллер, Н.В. Литвяков // Материалы IX Съезда онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии, Минск, 15-17 июня, 2016 г. //

Евразийский онкологический журнал. – 2016. – Т. 4, № 2. - С. 584-585.

10. Родионов, Е.О. Оценка прогностической значимости экспрессии генов монорезистентности в опухоли больных немелкоклеточным раком легкого после неoadьювантной химиотерапии [Текст] / И.В. Дерюшева, М.М. Цыганов, Е.О. Родионов, М.К. Ибрагимова, Н.В. Литвяков, С.В. Миллер // Материалы II Всероссийской конференции по молекулярной онкологии, Москва, 6–8 декабря 2016 г., // Успехи молекулярной онкологии. - 2016. – Т. 3, № 4. - С. 102-103.

11. Родионов, Е.О. Персонализированное назначение адьювантной химиотерапии в комбинированном лечении немелкоклеточного рака легкого III стадии [Текст] / Е.О. Родионов, М.М. Цыганов, Л.А. Ефтеев, И.В. Дерюшева // Сборник материалов Всероссийской конференции молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н.В. Васильева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии», Томск, 27–28 апреля 2017 г. / под ред. Е.Л. Чойнзонова, Э.В. Галажинского, Н.В. Чердынцевой. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 2017. – С. 110-111.

12. Родионов, Е.О. Прогностическая значимость экспрессии генов монорезистентности в опухоли больных немелкоклеточным раком легкого [Текст] / И.В. Дерюшева, М.М. Цыганов, Е.О. Родионов // Сборник трудов XIV Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук», Томск, 25–28 апреля 2017 г. / под ред. И.А. Курзиной, Г.А. Вороновой. – Томск: Изд-во – Национальный Исследовательский Томский политехнический университет, 2017. - С. 43-45.

13. Родионов, Е.О. Комбинированное лечение немелкоклеточного рака легкого III стадии с персонализированным назначением адьювантной химиотерапии [Текст] / Е.О. Родионов // Сборник научных трудов молодых ученых, Санкт-Петербург, 22 марта 2017 // СПб.: Издательство АННМО «Вопросы онкологии», 2017. – с. 132-137.

14. Родионов, Е.О. Персонализированный подход к назначению адьювантной химиотерапии в комбинированном лечении немелкоклеточного рака легкого III стадии [Текст] / Е.О. Родионов, С.В. Миллер, М.М. Цыганов, Н.В. Литвяков, Л.А. Ефтеев,

И.В. Дерюшева // Сборник научных работ III Петербургского Международного онкологического форума «Белые ночи 2017» ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. - 2017. - С. 33-34.

15. Родионов, Е.О. Персонализированная химиотерапия в комбинированном лечении местнораспространенного немелкоклеточного рака легкого [Текст] / Е.О. Родионов, М.М. Цыганов, С.В. Миллер, С.А. Тузиков, Л.А. Ефтеев, Н.В. Литвяков, И.В. Дерюшева // Сборник материалов XXI Российского онкологического конгресса, Москва, 14-16 ноября 2017 г. // Злокачественные опухоли. – 2017. – Т.7, №3s1. – С. 87.

Список патентов, баз данных:

1. Пат. 2593342 РФ С1, МПК G01N 33/48, А61К 31/282, А61К 31/704, А61К 31/7068, А61Р 35/00. Способ комбинированного лечения немелкоклеточного рака легкого IV-III стадии с персонификацией адьювантной химиотерапии / С.В. Миллер, Н.В. Литвяков, С.А. Тузиков, Е.О. Родионов, М.М. Цыганов, Е.Л. Юмов, И.Г. Фролова, Т.В. Полищук, П.Г. Байдала. - № 2015111049/15; Заявлено 26.03.2015; Опубл. 10.08.16; Бюл. № 22. – 15 с., ил.

2. База данных 2017620873 РФ. База данных экспрессионных и клинико-патологических параметров пациентов с диагнозом рак легкого / М.М. Цыганов, М.К. Ибрагимова, Е.О. Родионов, И.В. Дерюшева, С.В. Миллер, С.А. Тузиков, Н.В. Литвяков // Заявл. 16.06.2017, дата регистрации 10.08.2017.

Список используемых сокращений

АХТ	- адьювантная химиотерапия
БРВ	- безрецидивная выживаемость
ДИ	- доверительный интервал
ЛП	- лечебный патоморфоз
НАХТ	- неoadьювантная химиотерапия
НМРЛ	- немелкоклеточный рак легкого
НПВП	- нестероидные противовоспалительные препараты
ОР	- отношение рисков
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНК	- рибонуклеиновая кислота

Типография

Научное издание

Родионов Евгений Олегович

**Комбинированное лечение немелкоклеточного рака легкого
III стадии с предоперационной химиотерапией
и персонализированным назначением адъювантной
химиотерапии**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать _____ Формат 60×90/16.

Усл. печ. ____ Уч.-изд. ____

Тираж ____ экз. Заказ ____

Название типографии

Контакты типографии:

Адрес

Телефон

Ел почта

Сайт (при наличии)