Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (НИ ТГУ)
Институт биологии, экологии, почвоведения, сельского и лесного хозяйства
Кафедра физиологии человека и животных

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ В ГЭК

Руководитель ООП
д-р биол. наук
_____ Д.С. Воробьев
«19» июня 2020г.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА БАКАЛАВРА

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В ОПУХОЛИ ЛЁГКОГО В ПРОЦЕССЕ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

по основной образовательной программе подготовки бакалавров
направление подготовки 06.03.01 – Биология

Гаптулбарова Ксения Андреевна

Руководители ВКР
к.б.н, с.н.с. лаборатории онковирусологии
Томского НИМЦ
_____ М.М. Цыганов
подпись
«15» июня 2020г.

ст. преподаватель каф. физиологии
человека и животных БИ ТГУ
_____ Н.Н. Кувшинов
подпись
«15» июня 2020 г.

Автор работы
студентка группы № 01601
_____ К.А. Гаптулбарова
подпись

Томск – 2020

Оглавление

Перечень условных обозначений, сокращений 3
Реферат 4
Введение 5
Глава 1. Литературный обзор 8
1.1 Рак легкого 8
1.1.1 Классификация рака легких 9
1.1.2 Клинико-анатомическая классификация 9
1.1.3 Гистологическая классификация опухолей легких 10
1.2 Способы лечения НМРЛ 11
1.2.1 Хирургическое лечение НМРЛ 11
1.2.2 Неоадъювантная химиотерапия 11
1.2.3 Адъювантная химиотерапия (послеоперационная химиотерапия) 12
1.3 Химиорезистентность при НМРЛ 14
1.3.1 ABC – транспортеры 15
Глава 2. Материал и методы 22
2.1 Материал для исследования 23
2.2 Методы 23
Глава 3. Результаты и обсуждение 28
3.1 Оценка уровня экспрессии исследуемых генов ABC-транспортеров 28
3.2 Связь экспрессии генов ABC-транспортеров с эффективностью НХТ. 33
3.3 Оценка прогностической значимости экспрессии генов ABC-транспортеров 34
3.4 Оценка предиктивной и прогностической значимости изменения экспрессии генов ABC-транспортеров у больных немелкоклеточным раком легкого 36

Перечень условных обозначений, сокращений

РЛ – рак легкого

ЗНО – злокачественное новообразование

НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого

МРЛ – мелкоклеточный рак легкого

ХТ – химиотерапия

НХТ – неоадъювантная химиотерапия

АХТ – адъювантная химиотерапия

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

РНК – рибонуклеиновая кислота

АТФ – аденозинтрифосфат

ОТ-ПЦР – обратно-транскриптазная полимеразная цепная реакция

ПЦР – полимеразная цепная реакция

5-ФУ – 5 - фторурацил

мРНК – матричная РНК

кДНК – комплементарная ДНК

GAPDH – Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

ABCB1- ATP binding cassette subfamily B member 1

ABCC1- ATP binding cassette subfamily C member 1

ABCC2- ATP binding cassette subfamily C member 2

ABCC5- ATP binding cassette subfamily C member 5

ABCG1- ATP binding cassette subfamily G member 1

ABCG2- ATP binding cassette subfamily G member 2

GSTP1- glutathione S-transferase pi 1

dNTP – дезоксирибонуклеотид

Real time PCR – ПЦР в режиме реального времени

Реферат

На сегодняшний день, онкопатология легких является наиболее распространенной причиной смертности от рака во всем мире. Из различных видов именно немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) составляет около 85% всех случаев рака легкого (РЛ). Условная радикальность хирургического вмешательства при III стадии НМРЛ обусловлена высокой вероятностью наличия метастазов, поэтому в лечении данной категории больных требуется использование системной химиотерапии. Однако она не всегда может быть эффективна. Считается, что основной причиной неэффективности химиотерапии опухоли является формирование под действием лекарственных средств фенотипа адаптивной множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), который обусловлен повышением экспрессии генов ABC-транспортеров (*ABCB1, ABCB3, ABCC1, ABCC2, ABCC5, ABCG1* и *ABCG2* и др.) выбрасывающих широкий спектр химиопрепаратов из опухолевых клеток против градиента концентрации с затратой энергии АТФ.

Данная работа была посвящена исследованию экспрессии генов ABC–транспортеров в нормальной и опухолевой ткани у больных немелкоклеточным раком легкого.

Работа изложена на 52 страницах. Структура представлена: введением, обзором литературы, материалами и методами, результатами, их обсуждением, выводами и списком использованной литературы. Для написания данной работы было использовано 19 источников отечественной и 126 источников зарубежной литературы.

В результате проведённого исследования было установлено, что уровень экспрессии генов ABC-транспортеров слабо связан с основными клинико-морфологическими параметрами пациентов. Начальный уровень экспрессии генов ABC-транспортеров до лечения никак не влияет на эффект неоадъювантной химиотерапии. Оценка уровня экспрессии генов МЛУ после проведения НХТ в опухолевой ткани у больных с частичной регрессией и стабилизацией также не показала статистически значимых различий. Было установлено, что при гипоэкспрессии генов *ABCB1, ABCG1, ABCG2* после проведения лечения показатель безметастатической выживаемости выше, чем при гиперэкспресии. При оценке предиктивной и прогностической значимости изменения экспрессии генов ABC-транспортеров у больных немелкоклеточным раком легкого было установлено, что снижение уровня экспрессии *ABCB1* в 71% случаев связано с положительным ответом на химиотерапию и более высокими показателями безметастатической выживаемости.

Введение

На сегодняшний день, онкопатология легких по-прежнему является наиболее распространенной причиной смертности от рака во всем мире (Фоменко А. В., 2018). Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) составляет около 85% всех случаев рака легкого (РЛ). Местно-распространенная форма или III стадия болезни встречается у 30% пациентов с НМРЛ (Колбанов К., 2016). Лечение III стадии остается сложной и противоречивой задачей, что большей частью связано с разными степенями распространенности первичной опухоли. Условная радикальность хирургического вмешательства при III стадии НМРЛ обусловлена высокой вероятностью наличия субклинических метастазов, поэтому в лечении данной категории больных требуется использование системной химиотерапии (Kastelijn E. A., 2019). Список основных конвенциональных химиопрепаратов, которые в настоящее время чаще всего используются для лечения НМРЛ, достаточно ограничен и включает в себя препараты платины, доксорубицин, этопозид, винорелбин, таксаны, гемцитабин, и т.д. Обычно используются платиносодержащие дублеты с другим цитостатиком из представленного списка (Тюляндин С., 2010). Тем не менее, не смотря на огромные усилия, направленные на разработку новых схем химиотерапии, терапевтические результаты остаются неудовлетворительными (Schiller J. H., 2002). Так установлено, что эффективность применяемой неоадъювантной (предоперационной) химиотерапии (НХТ) у больных немелкоклеточным раком легкого сильно варьирует (Felip E., 2010; Pisters K. M., 2010; Scagliotti G. V., 2011). Так в работе Pisters K. et al. (Pisters K., 1993) авторы сообщили о 12% больных, которые достигли полного ответа (9 из 73 случаев), Roth J.A. et al. (Roth J. A., 1994) показали отсутствие эффективности НХТ у 28 пациентов, в исследовании Rosell R. et al. (Rosell R., 1994) всего у 3% (1 из 30) пациентов наблюдался положительный ответ на лечение. В целом, средний показатель полного патологического ответа, описанный в исследованиях, составляет всего 4% (диапазон 0-16%).

С точки зрения прогноза, местнораспространенный рак разделяют на IIIA стадию с 24%-й 5-летней выживаемостью и IIIB стадию с неблагоприятным прогнозом и 9%-й 5-летней выживаемостью (Crino L., 2010). Несмотря на постоянное совершенствование хирургического метода, а также применения различных комбинаций адъювантной (послеоперационной) химиотерапии (АХТ), заметной тенденции к улучшению данных выживаемости не наблюдается. У подавляющего большинства больных с III стадией (35–50%) прогрессирование процесса происходит за счет развития отдаленных метастазов (Трахтенберг А. Х., 2008; Crino L., 2010). Эффективность лекарственной терапии опухолей может быть обусловлена совокупностью целого ряда групп факторов,

включающих: основные клинико-морфологические параметры опухолевого процесса; генетические особенности организма, связанные с нормальной генетической изменчивостью генов, вовлеченных в регуляцию жизнедеятельности организма и опухоли и метаболизм лекарственных средств; физиологические особенности организма, которые определяют фон развития и прогрессии опухоли; молекулярно-генетические особенности опухоли, связанные с изменениями (мутации, гипо- и гиперметилирование, амплификация и др.) в онкогенах, в генах-супрессорах и генах-модификаторах, а также с изменениями в паттерне экспрессии многочисленных генов метаболических путей активации лекарственных средств, транспортных генов, генов ферментных систем инактивации ксенобиотиков и т.п. (Olaussen K. A., 2006; Hansen H. H., 2008).

Считается, что основной причиной неэффективности химиотерапии опухоли является формирование под действием лекарственных средств фенотипа адаптивной множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), который обусловлен повышением экспрессии генов ABC-транспортеров выбрасывающих широкий спектр химиопрепаратов из опухолевых клеток против градиента концентрации с затратой энергии АТФ (Gottesman M. M., 2002; Gillet J.-P., 2011). Семейство ABC-транспортеров (ATP-Binding Cassette), насчитывает около 50 представителей и наиболее известные из них: *ABCB1, ABCB3, ABCC1, ABCC2, ABCC5, ABCG1* и *ABCG2*. Роль этих генов в развитии МЛУ была доказана в опытах по их трансфекции в чувствительные к цитостатикам линии клеток и в экспериментах *in vitro* (Raghu G., 1996; Szakacs G., 2008; Szakács G., 2009). Было установлено, что ABC-транспортеры определяют около 70-85% случаев низкой эффективности конвенциональной химиотерапии (Robey R. W., 2018). В частности было отмечено, что гиперэкспрессия в опухолевой ткани легкого генов *ABCB1, ABCC1* и др. до лечения была связана не только с плохим ответом на неоадъювантную химиотерапию, а также с низкими показателями безметастатической и общей выживаемости (Cuffe S., 2012; Seeree P., 2019).

Таким образом, на сегодняшний день, актуальным является исследование фундаментальных аспектов формирования фенотипа МЛУ у больных РЛ, молекулярно-генетических маркеров химиорезистентности опухолевых клеток, связь с эффективностью химиотерапии. На основании этого перспективным направлением может рассматриваться разработка новых предиктивных и прогностических критериев для максимальной персонализации химиотерапии, которые будут учитывать индивидуальные особенности организма больного и опухоли в соответствии с принципами молекулярной онкологии и фармакогеномики.

Цель дипломной работы: исследование экспрессии генов ABC–транспортеров в нормальной и опухолевой ткани у больных немелкоклеточным раком легкого.

Задачи исследования:

1. Оценить уровень экспрессии исследуемых генов ABC-транспортеров в биопсийном и операционном материале нормальной и опухолевой ткани легкого.
2. Провести анализ связи экспрессии генов ABC-транспортеров с основными клинико-патологическими параметрами пациентов.
3. Провести анализ связи экспрессии генов ABC-транспортеров с эффективностью неоадъювантной химиотерапии.
4. Оценить прогностическую значимость экспрессии генов ABC-транспортеров у больных немелкоклеточным раком легкого.

Глава 1. Литературный обзор

1.1 Рак легкого

Рак легкого (РЛ) является одним из наиболее распространенных злокачественных опухолей в мире с самой высокой заболеваемостью и смертностью. На сегодняшний день в большинстве стран рак легкого является одной из важнейших медицинских проблем в связи с его лидирующей позицией в структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований (Ferlay J., 2015).

В 2012 году во всем мире зарегистрировано около 1,8 миллиона новых случаев заболевания РЛ (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) (Ferlay J., 2016).

В Российской Федерации в 2015 году первое место в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями мужского населения России занимали опухоли трахеи, бронхов, легкого (17,8 %). У женщин данные злокачественные новообразования составили всего 3,8% (Каприн А., 2015). Средний возраст больных превышает 59 лет. Показано, что вероятность развития злокачественного новообразования (ЗНО) легкого значительно возрастает с увеличением возраста. В группе мужчин старше 70 лет в среднем у одного из 200 выявляется опухоль легкого (Каприн А., 2015).

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

Интересно, что по данным SEER (Miller K. D., 2016), в большинстве случаев рак легких диагностируется на запущенных стадиях (около 57% случаев), 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 обусловливают высокие показатели смертности. Пятилетняя выживаемость при локализованном процессе составляет 55%, при местно-распространенном процессе - 27%, и 4% при наличии отдаленных метастазов. Среди впервые выявленных больных раком легкого в России I стадия процесса установлена в 11,3 % случаев, II стадия - в 16,0 % случаев. Неплохой остается выявляемость на запущенных стадиях. Так, III стадия составила 30%, IV стадия - 40%.

Среди причин развития рака легких выделяют курение (как активное, так и пассивное), что признают одной из главных и достоверно подтвержденных причин (80–90%) возникновения рака легкого (Hecht S. S., 2002; Im Kim K., 2013). Кроме этого, генетическая предрасположенность, а также наличие сопутствующих легочных заболеваний (хронический бронхит, ХОБЛ, затяжные пневмонии, очаговый и диффузный пневмосклероз или туберкулез) повышает риск заболеваемости РЛ. В патогенезе РЛ выделяют три этапа:

1. канцероген воздействует на ДНК эпителиальных клеток, изменяя и перестраивая ее геном, что ведёт к образованию раковой клетки;
2. после повторной встречи с провоцирующим фактором измененная клетка активизируется и начинает бесконтрольно размножаться, образуя опухолевый узел;
3. опухоль распространяется на соседние структуры: плевру, средостение, перикард — приобретает способность к метастазированию (Liu D., 2017).

1.1.1 Классификация рака легких

Рак легкого - гетерогенное заболевание, объединяющее различные по происхождению, гистологической структуре, клиническому течению и результатам лечения злокачественные эпителиальные опухоли. Развиваются они из покровного эпителия слизистой оболочки бронхов, бронхиальных слизистых желёз бронхиол и лёгочных альвеол (Чучалин А., 2014).

1.1.2 Клинико-анатомическая классификация

Центральный рак лёгкого возникает в бронхах (главном, промежуточном, долевом, сегментарном и субсегментарном). По направлению роста выделяют *экзофитный* (эндобронхиальный) рак, когда опухоль растёт в просвет бронха; *эндофитный* (экзобронхиальный) рак с преимущественным ростом опухоли в толщу лёгочной паренхимы; разветвлённый рак с муфтообразно перибронхиальным ростом опухоли вокруг бронхов, а также *смешанный* характер роста опухоли с преобладанием того или иного компонента (Чучалин А., 2014).

Периферический рак лёгкого исходит из эпителия более мелких бронхов или локализующийся в паренхиме лёгкого. Различают *узловую округлую* опухоль, *пневмониеподобный* рак и рак верхушки лёгкого с *синдромом Панкоста* .

1.1.3 Гистологическая классификация опухолей легких

Согласно морфологической классификации ВОЗ выделяют четыре основные гистологические группы рака легкого:

Плоскоклеточный рак (40% больных): папиллярный, светлоклеточный, базальноклеточный.

Аденокарцинома (40–50%): ацинарная, папиллярная, бронхиолоальвеолярный рак, солидный рак с образованием муцина и другие.

Мелкоклеточный рак (МРЛ) (15–20%): комбинированный мелкоклеточный рак или нейроэндокринная карцинома.

Крупноклеточный рак (5–10%): крупноклеточная карцинома.

Эти группы составляют около 90% всех случаев опухолей легкого. Остальные 10% охватывают редко встречающиеся формы, саркомы, меланомы и др. (Xu Y., 2015) На долю немелкоклеточного РЛ (НМРЛ) приходится свыше 80% больных (включает в себя плоскоклеточный рак и аденокарциному) (Sekido Y., 2005) (Таблица 1).

Основным клиническим фактором прогноза при НМРЛ является наличие метастазов. Этот фактор прогноза с большой вероятностью свидетельствует о наличии отдаленных микрометастазов. При этом результаты хирургического лечения при II и III стадии НМРЛ остаются неудовлетворительными, а используемая химиотерапия применяется «в слепую», что не дает существенного прироста общей и безрецидивной выживаемости больных (Downey R. J., 1999; Lang-Lazdunski L., 2013).

Таблица 1 – Международная гистологическая классификация рака легкого

Гистологическая группа	Подтипы
Плоскоклеточный рак	Папиллярный
	Светлоклеточный
	Мелкоклеточный
	Базальноклеточный
Мелкоклеточный рак	Комбинированный мелкоклеточный рак
Аденокарцинома	Ацинарная
	Папиллярная
	Бронхиолоальвеолярный рак
	Солидный рак с образованием муцина
	Другие
Крупноклеточный рак	Крупноклеточная нейроэндокринная карцинома

	Другие
Другие формы	Карциносаркома, карциноид, веретеноклеточная

1.2 Способы лечения НМРЛ

В настоящее время существую разные подходы в лечении больных немелкоклеточным раком легкого, основными из которых является проведение хирургического лечения и проведение химиотерапии.

Принципиально важным является деление рака легкого по морфологическому признаку на 2 категории: немелкоклеточный рак (НМРЛ) и мелкоклеточный рак (МРЛ). НМРЛ, объединяя плоскоклеточный, аденокарциному, крупноклеточный и некоторые редкие формы (бронхиолоальвеолярный и др.), составляет приблизительно 75-80%. На долю МРЛ относится 20-25% (Багрова С. Г., 2013).

1.2.1 Хирургическое лечение НМРЛ

Самым эффективным среди существующих методов лечения НМРЛ (операция, лучевая терапия, химиотерапия) является хирургический. Однако данное лечение нельзя считать удовлетворительными, так как 5-летняя выживаемость после радикального хирургического лечения колеблется в пределах 30 % и не имеет заметной тенденции к повышению (Черных А., 2009).

Хирургическое лечение больных раком легкого подразумевает удаление органа (пневмонэктомия) или его анатомическую (билобэктомия, лобэктомия, сегментэктомия) и неанатомическую (сублобарную) резекцию с очагом болезни, внутрилегочными, корневыми и средостенными лимфатическими узлами (Чучалин А., 2014).

1.2.2 Неоадъювантная химиотерапия

Использование неоадъювантной (индукционной) ХТ при НМРЛ первоначально вызвало энтузиазм, чему способствовали два небольших исследования у больных с III стадией заболевания (Goldstraw P., 2007; Давыдов М., 2008).

Основная задача неоадъювантной химиотерапии (НХТ) состоит в повреждении опухолевых клеток, снижении степени злокачественности, санации лимфатических путей корня легкого и средостения для предупреждения лимфо- и гематогенного метастазирования и, следовательно, рецидива болезни. Разработанное изначально для оценки лекарственного патоморфоза (степени повреждения опухолевой ткани,

устанавливаемой при морфологическом исследовании удаленной опухоли) данное воздействие стало шире использоваться как предоперационное лечение (Переводчикова Н., 2013).

Итак, основными целями проведения НХТ являются:

- снижение биологической активности опухоли;
- уменьшение размеров опухоли;
- увеличение резектабельности;
- повышение абластики (предотвращение рецидива и метастазирования злокачественной опухоли, путём удаления опухолевого очага вместе с лимфатическими сосудами и регионарными лимфатическими узлами единым блоком, в пределах здоровых тканей, не касаясь поражённых тканей);
- определение чувствительности опухоли к химиотерапии (лекарственный патоморфоз) (Миллер С. В., 2015).

Кроме этого, при использовании химиотерапии в неоадъювантном режиме наблюдается лучшая переносимость, чем в послеоперационном периоде, повышается ее эффективность при неизмененном кровоснабжении опухоли до операции, а также повышается возможность проведения всех запланированных курсов химиотерапии (Group N. M.-a. C., 2014; Zheng Y., 2016).

НХТ имеет видимые преимущества перед адъювантной; к ним относятся возможность воздействия на микрометастазы, оценки химиочувствительности опухоли in vivo, низкий риск развития лекарственной резистентности, доставка химиопрепаратов непосредственно к опухоли благодаря неповрежденному сосудистому ложу (Bernstein E. D., 2006).

Проведенные исследования показали, что в режиме монотерапии выявлена чувствительность опухоли к паклитакселу, доцетакселу, винорельбину, цисплатину, этопозиду. Первые поистине положительные результаты были достигнуты при использовании комбинации этопозида и цисплатина (Faivre C., 2017).

1.2.3 Адъювантная химиотерапия (послеоперационная химиотерапия)

Интересно отметить, что данный вид химиотерапии является вспомогательным, дополняющим хирургические и лучевые методы лечение.

Исследование, проведенное Adjuvant Navelbine International Trialist Association (ANITA), рандомизироло пациентов со стадией IB, II или IIIA на две группы. В первой группе проводилась адъювантная химиотерапия по схеме винорелбин/цисплатин в количестве 4 курсов, а во второй группе только наблюдение. Было установлено, что

химиотерапия значительно увеличивала медиану выживаемости (65,7 против 43,7 месяцев; ОР 0,80; 95 % ДИ 0,66-0,96, p=0,02) (Douillard J.-Y., 2006). В другом рандомизированном исследовании Adjuvant Lung Project (ALPI) пациенты также были распределены на 2 группы: с проведением адъювантной химиотерапии по схеме митомицин, виндезин и цисплатин с отсутствием адъювантного 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 (ОР 0,89; 95 % ДИ 0,76-1,03, p=0,13) в обеих группах (Scagliotti G. V., 2011). Учитывая разнородность описанных исследований, проведено несколько мета-анализов для объединения результатов. В работе Lung Adjuvant Cisplatin Evaluation (LACE) были объединены 4584 пациентов из пяти крупнейших исследований на основе цисплатин-содержащей химиотерапии. При медиане наблюдения 5,2 года в целом ОР смерти составил 0,89 (95 % ДИ 0,82-0,96, p=0,005) что соответствует 5,4 % 5-летней абсолютной выгоды от адъювантной химиотерапии. Преимущество варьировалась в зависимости от стадии заболевании (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, общая доза цисплатина (Pignon J.-P., 2008).

Основной целью данной терапии является уничтожение микрометастазов опухоли после удаления или лучевого излечения первичного очага (Burdett S., 2015)

Благодаря результатам многочисленных рандомизированных клинических исследований и мета-анализов последних лет можно были сделаны следующие выводы:

1. Проведение адъювантной химиотерапи позволяет добиться увеличения общей и безрецидивной выживаемости у больных НМРЛ.
2. Проведение адъювантной химиолучевой терапии снижает вероятность местного рецидивирования и отдалённого метастазирования.
3. Важнейшим звеном при определении целесообразности проведения адъювантного лечения следует считать изучение прогностических факторов, связанных с высоким риском местного рецидивирования и отдалённого метастазирования (Herbst R. S., 2004; Арсеньев А., 2006).

Для осуществления адъювантной химиотерапии используют противоопухолевые агенты, высокоактивные при данном виде опухоли. Терапия должна быть длительной (месяцы), что обусловлено гетерогенностью популяции опухолевых клеток и прерывистой вследствие токсичности химиотерапии. Это направление содержит в себе такие опасности, как развитие резистентного рецидива болезни. Но правильное применение адъювантной химиотерапии позволяет продемонстрировать ее преимущества при целом

ряде злокачественных новообразований человека (остеогенная саркома, рак молочной железы, рак яичников, саркома Юинга, мелкоклеточный рак легкого, семинома и несеминомные опухоли яичка, рак тела матки, колоректальный рак) (Okuda K., 2018).

1.3 Химиорезистентность при НМРЛ

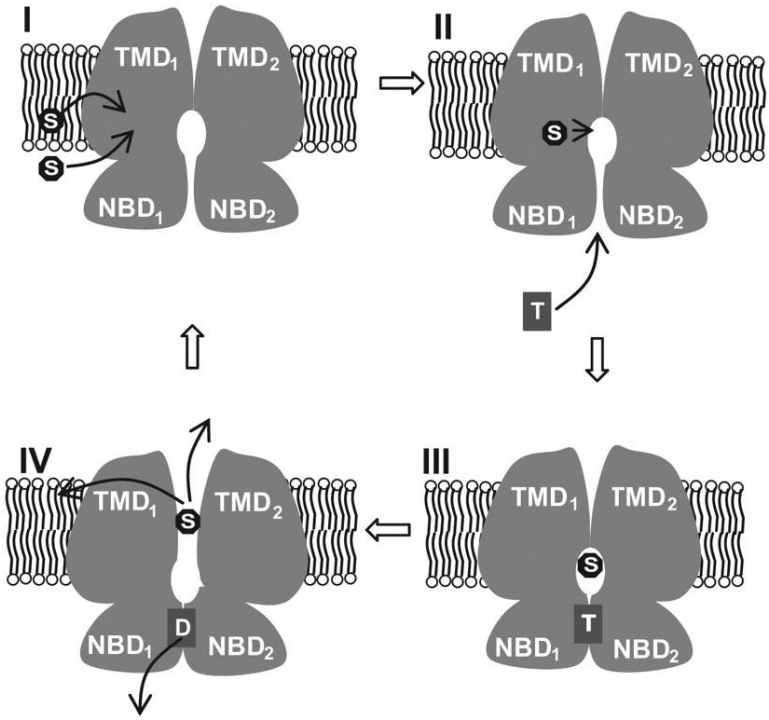
В настоящее время химиорезистентность опухолевых клеток к различным терапевтическим препаратам считают одной из наиболее важных причин неэффективности химиотерапии злокачественных новообразований. Множественную лекарственную устойчивость (МЛУ) определяют как резистентность клеток опухоли к широкому кругу несходных по структуре лекарственных препаратов, в основе которой лежит экспрессия на клеточной мембране белков ABC-транспортеров, выбрасывающих лекарственные средства из опухолевых клеток против градиента концентраций с затратой энергии АТФ (Gottesman M. M., 2002; Bader A., 2014).

На данный момент в семейство ABC-транспортеров входит около 50 генов. Выделяют семь основных подсемейств, начиная с *ABCA* (*ATP-binding cassette, subfamily A*) и заканчивая *ABCG* (*ATP-binding cassette, subfamily G*). Из них, два подсемейства не связанны с мембраной и не участвуют в транспорте – это *ABCE* и *ABCF* (т.к. участвуют в трансляционном контроле). Основными группами ABC-трансмембранных белков транспортеров в исследованиях множественной лекарственной устойчивости считаются: *ABCA, ABCB, ABCC, ABCD и ABCG* (Kerr I. D., 2011).

Канонический ABC-транспортер состоит из четырех функциональных блоков или доменов, двух TMD (transmembran ebinding domen) – TMD1, TMD2 (Holland I. B., 1999), которые участвуют в формировании трансмембранной поры и. двух NBD (nucleotid binding domen) – NBD1, NBD2 (Hollenstein K., 2007). Один субдомен NBD носит название Walker A, он связывается с остатком фосфорной кислоты молекулы ATP и катализирует ее гидролиз, а второй субдомен – регуляторный, он содержит аспартат, связывается с магнием, ассоциированным с нуклеотидами, это Walker B субдомен или regulatory domen (Walker J. E., 1982; Lockhart A. C., 2003; Tusnády G. E., 2006; Szakacs G., 2008; Szakács G., 2009) (Рисунок 1).

Все ABC-транспортеры по своей структуре подразделяются на полные и неполные. Полные имеют структуру $(TMD\text{-}NBD)_2$ и локализуются на плазматической мембране клетки. Неполные транспортеры имеют структуру TMD-NBD и, как правило, локализованы на внутриклеточных мембранах (лизосомальных, митохондриальных, эндоплазматическом ретикулуме), единственным исключением является неполный белок

Abcg2 (Bcrp) продукт гена *ABCG2*. Он локализован на цитоплазматической мембране



клетки и участвует в реализации фенотипа МЛУ (Rocchi E., 2000; Tusnády G. E., 2006).

Рисунок 1 – Предполагаемый каталитический механизм работы ABC-транспортеров (Park M. S., 2007).

Примечание: на рисунках схематизируется ABC-транспортер с его четырьмя доменами, два из которых (TMD1/2) встроены в мембрану. Субстрат (S), поступающий из цитозоля или уже находящийся внутри мембраны, связывается с сайтом связывания субстрата в одном из TMD (этот сайт еще не был точно локализован и, фактически, может быть одним из нескольких сайтов связывания) (I → II). За этим последует связывание АТФ (T) с нуклеотидсвязывающим сайтом, локализованным на границе раздела между двумя NBD (обратите внимание, что представлен только один из двух нуклеотидсвязывающих сайтов) (II → III). Связывание АТФ и гидролиз сопровождаются структурной перестройкой, которая позволяет субстрату получать доступ и транслоцироваться через мембранный путь (III → IV). После АДФ (D) и диссоциации фосфата белок возвращается в исходное состояние (IV → I). Эта все еще предполагаемая модель основана на модели, предложенной для бактериального BtuCD (Wu M. F., 2005), за исключением пути субстрата, который инвертирован.

1.3.1 ABC – транспортеры

Применение неоадъювантной химиотерапии при лечении больных немелкоклеточным раком легкого позволяет уменьшить размер опухоли, повысить абластичность операции, а также спланировать проведение послеоперационной химиотерапии. Одной из важных причин неэффективности химиотерапии является химиорезистентность, обусловленная экспрессией генов ABC-транспортеров, основными из которых являются *ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCC5, ABCG1, ABCG2* (Цыганов М. М., 2016).

Самым хорошо изученным подсемейством ABC-транспортеров является *ABCB*. Данная группа включает 11 представителей с разной локализацией в плазматической мембране (Tusnády G. E., 2006). Ярким представителем данного подсемейства является ген *ABCB1* локализованный на длинном плече 7 хромосомы (7q21.12). Кодирует 1280 аминокислотный транспортер P-гликопротеина (P-gp) (Jażdżyk M., 2014). Впервые роль гликопротеина P была изучена в контексте резистентности опухоли к цитостатикам в 1970 году, когда появилась первая публикация, где указывалось на ведущую роль клеточной стенки и уменьшение проникновения препарата внутрь клетки в формировании резистентности к актиномицину D на культуре клеток китайского хомяка (Biedler J. L., 1970).

В 1980-х гг. появились первые научные данные по изучению роли гликопротеина P и гена *MDR1 (ABCB1)* на культурах клеток животных и человека (Inaba M., 1979; Chen C., 1986). P-гликопротеид гиперэкспрессирован в клетках некоторых тканей, там он играет значительную роль в выведении вредных ксенобиотиков (например, в печени, почках, надпочечниках, желудочно-кишечном тракте) и в защите таких тканей, как мозг, яички, и плацента от этих субстратов (Faber K. N., 2003; Fromm M., 2003; Ho R. H., 2005). Кроме этого, P-гликопротеид является одной из основных частей гематоэнцефалического барьера. Fojo et al. (1987) провел исследования, измерив уровень мРНК *ABCB1* в опухолевой и нормальной тканях (Fojo A., 1987). Высокие уровни P-гликопротеида встречались в некоторых остеогенных саркомах. Baldini с коллегами (1995) исследовал зависимость между уровнем P-гликопротеида и результатом лечения у 92 пациентов с высокодифференцированной остеогенной саркомой краевых зон. Высокий уровень P-гликопротеида в остеогенной саркоме указывал на снижение вероятности положительного эффекта (Baldini N., 1995). *ABCB1* экспрессируется и в доброкачественных опухолях (Randolph G. J., 1998). Высокий уровень экспрессии *ABCB1* был связан с отсутствием ответа на химиотерапию при различных злокачественных новообразованиях, включая рак почки, печени и толстой кишки, а так же лимфомы, и при лейкемии (Ambudkar S. V., 2003).

На сегодняшний момент стандартом химиотерапевтического лечения пациентов с III-IV стадиями НМРЛ является комбинация цисплатина/карбоплатина с паклитакселом, этопозидом, гемцитабином или винорельбином. Но очень часто частота объективного ответа опухоли на ХТ составляет всего 20-50 %. Низкие показатели эффективности химиотерапии связаны с химиорезистентностью опухоли к проводимому лечению (Шевченко А., 2016).

Вариабельность экспрессии и функциональной активности гена в наибольшей степени обусловлена генетическим полиморфизмом *ABCB1* (Marzolini C., 2004). Одним из наиболее изученных является однонуклеотидный полиморфизм *C3435T* в 26 экзоне промоторной зоны гена *ABCB1*, который приводит к снижению синтеза мРНК и белка (Hoffmeyer S., 2000; Wang D., 2005). Проявлением данной однонуклеотидной замены приводит к уменьшению экспрессии гена *ABCB1* на поверхности клетки, в результате чего замедляется выведение лекарственных средств, являющихся субстратами гликопротеина Р в различных органах (Brambila-Tapia A. J. L., 2013).

ABCB1

ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1, хромосомное месторасположение: 7q21.12 (PubMed, OMIM).

ABCB1/MDR1 (также известный как Р-гликопротеин) является потенциальным механизмом устойчивости к противосудорожным препаратам (Siddiqui A., 2003).Белок, кодируемый этим геном, представляет собой АТФ-зависимый отток лекарственного средства для ксенобиотических соединений с широкой субстратной специфичностью. Он отвечает за снижение накопления лекарств в клетках с множественной лекарственной устойчивостью и часто опосредует развитие устойчивости к противоопухолевым препаратам. Мутации в этом гене связаны с устойчивостью к колхицину и воспалительным заболеванием кишечника (Bournissen F. G., 2009).

В нормальном легком *ABCB1* экспрессируется на апикальной поверхности бронхиального и бронхиолярного эпителия и на плазматической мембране альвеолярных макрофагов, где он может функционировать для удаления инородных соединений из просвета легкого (Scheffer G., 2002). При раке легких экспрессия *ABCB1* изначально низкая, но она может измениться после воздействия химиотерапии как часть приобретенной лекарственной устойчивости (Fardel O., 1996). *ABCB1* придает устойчивость к цитотоксическим лекарствам, включая этопозид и цисплатин, и полиморфизмы могут влиять на специфичность субстрата (Liu L., 2010).

На функцию *MDR1* могут влиять полиморфизмы в кодирующем гене, *ABCB1* (Szoeke C., 2009). Было выявлено несколько однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) этого гена, которые модифицируют его экспрессию или активность (Szoeke C., 2009). Следует отметить, что многие лекарственные средства, являющиеся субстратами для *MDR1*, демонстрируют существенно измененную фармакокинетику при совместном введении с ингибиторами *MDR1* (Fromm M., 2000; Marzolini C., 2004). Распространенным полиморфизмом *ABCB1* является синонимичное превращение C в T в положении 3435 экзона 26. Предполагается, что этот SNP уменьшает экспрессию белкового продукта (Hoffmeyer S., 2000; Woodahl E. L., 2004), а также люди с генотипом T/T имеют пониженную экспрессию *MDR1* и более высокие концентрации субстрата в плазме после перорального введения по сравнению с C/C-гомозиготами или C/T-гетерозиготами (Szoeke C., 2009).

ABCC1

ATP Binding Cassette Subfamily C Member, хромосомное месторасположение: 16p13.11 (PubMed, OMIM).

ABCC1/MRP1 является нетипичным ABC-транспортером, он содержит три мембранно-связывающих домена (MSD) и два цитозольных нуклеотидсвязывающих домена (NBD) (Liu X.-Y., 2012; Mo W., 2012). Белок, кодируемый этим геном, является членом суперсемейства АТФ-связывающих кассетных (ABC) транспортеров. Продукт экспрессии данного гена функционирует как мультиспецифический переносчик органических анионов, с окисленными глутатионами, цистеинил лейкотриенами и активированным афлатоксином B1 в качестве субстратов. Так же белок транспортирует глюкурониды и сульфатные конъюгаты стероидных гормонов и желчных солей.

ABCC1/MRP1 повсеместно экспрессируется почти во всех тканях человека (Flens M. J., 1996; Jiye Y., 2011). Высокий уровень экспрессии зафиксирован в легких, селезенке, яичках, почках, и др. органах, низкий или отсутствующий в некоторых клетках системы кровообращения (эозинофилы, вспомогательные Т-клетки, эритроцит) (Chang X.-b., 2010). На клеточном уровне, в отличие других ABC-транспортеров, расположенных на апикальной мембране, *ABCC1* преимущественно локализован в базолатеральной мембране поляризованных клеток (Evers R., 1996; Roelofsen H., 1997; Jiye Y.Jianting Z., 2011).

Следовательно, *ABCC1*, переносит свой субстрат в интерстициальное пространство тела, а не выделяет его в желчь, мочу или кишечник.

ABCC1 может транспортировать широкий спектр субстратов, одни из них — это противораковые препараты. Большое разнообразие противоопухолевых препаратов,

включая антрациклины, эпиподофиллотоксины, алкалоиды барвинка, камптотецины, метотрексат и митоксантрон, являются известными субстратами ABCC1 и, таким образом, избыточная экспрессия ABCC1 приводит к множественной лекарственной устойчивости в химиотерапии рака (Yin J.-Y., 2009; Jiye Y.Jianting Z., 2011).

ABCC2

ATP Binding Cassette Subfamily C Member 2, хромосомное месторасположение:10q24.2 (PubMed, OMIM).

ABCC2/MRP2 экспрессируется на основных физиологических барьерах, таких как канальцевая мембрана клеток печени, эпителиальные клетки проксимального канальца почки, энтероциты тонкого и толстого кишечника и синцитиотрофобласт плаценты. *ABCC2* всегда располагается апикальных мембранах (Jemnitz K., 2010).

ABCC2 экспрессируется на низких уровнях в нормальной ткани легких и на высоких уровнях при раке легких (Sandusky G., 2002). В опухолевых клеточных линиях избыточная экспрессия мРНК *ABCC2* была связана с устойчивостью к этопозиду, винкристину, цисплатину, доксорубицину и эпирубицину (Cui Y., 1999; Campa D., 2012).

ABCC2 выделяет более широкий спектр лекарств, в сравнении с *ABCC1*, включая цисплатин (Sissung T. M., 2010), препарат, наиболее широко используемый при лечении пациентов с раком легких. Ранее было также обнаружено, что ген *ABCC2* связан с токсичностью, которая вызвана химиотерапевтическими агентами, и выживаемостью при раке легких (Han J. Y., 2007).

ABCC5

ATP Binding Cassette Subfamily C Member 5, хромосомное месторасположение: 3q27.1 (PubMed, OMIM).

Продукт данного гена состоит из 1437 аминокислотных остатка и состоит из 12 трансмембранных доменов и двух нуклеотидных доменов (Belinsky M. G., 1998).

Белок функционирует в клеточном экспорте циклических нуклеотидов. Этот экспорт способствует деградации фосфодиэстераз и, возможно, пути элиминации циклических нуклеотидов. Исследования показывают, что этот белок обеспечивает устойчивость к противоопухолевым препаратам тиопурина, 6-меркатопурину и тиогуанину, а также к препарату против ВИЧ 9- (2-фосфонилметоксиэтил) аденин (PubMed, OMIM).

Исследования таких автором, как Kool et al., Suzuki et al., Belinsky et al. показали высокую экспрессию *ABCC5/MRP5* в скелетной мускулатуре, а также мозговой ткани, почках, яичниках, и сердечной мускулатуры (Kool M., 1997; Suzuki T., 1997; Belinsky M.

G., 1998). *ABCC5* – является геном множественной лекарственной устойчивости, но была показано, что избыточная экспрессия продукта данного гена приводит к снижению внутриклеточной концентрации нуклеотидных противоопухолевых аналогов, таких как 6-меркаптопурин, после их преобразования в соответствующих нуклеотиды. Oguri et al. (2000) отметил, что эффективность препаратов платины в лечении рака лёгкого ограничена при экспрессии *ABCC5* (Oguri T., 2006). ПЦР анализ показал, что экспрессия *ABCC5*, увеличена в нормальной ткани и в ткани опухоли легкого, после лечения препаратами платины. Однако, *in vitro*, обработка цисплатином клеток рака легкого, или мононуклеарных клеток карбоплатином, не вызывает увеличение экспрессии *ABCC5* (Huret J.-L., 2012).

ABCG1

ATP Binding Cassette Subfamily G Member 1, хромосомное месторасположение: 21q22.3 (PubMed, OMIM).

Белок, кодируемый *ABCG2/BCRP,* участвует в транспорте холестерина и фосфолипидов макрофагов и может регулировать клеточный липидный гомеостаз в разных типах клеток. Трансмембранный транспортер ABCG1 осуществляет перенос холестерина через мембрану клетки на частицы липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), обеспечивая их насыщение холестерином (Tarling E. J., 2013). Предполагается, что на внешней клеточной мембране ABCG1 локализуется преимущественно в районе липидных рафтов (Matsuo M., 2010).

Транспортер ABCG1 присутствует также и на мембранах эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи, что свидетельствует о том, что он вовлечен во внутриклеточный транспорт холестерина (Kerr I. D., 2011). Было показано, что транспортер ABCG1 препятствует накоплению в клетках токсичных окисленных форм холестерина, в частности 7-кето-холестерола, увеличение содержания которого отличает сформировавшуюся атеросклеротическую бляшку от липидного пятна (Душкин М., 2006; Terasaka N., 2008; Мирошникова В., 2014).

Как было сказано выше, продукт гена *ABCG1* играет важную роль в гомеостазе холестерина и иммунитете опухоли. Недавние исследования показали, что белок ABCG1 повышен при раке легких по сравнению с соседними нормальными тканями (Seeree P., 2019). Было показано, что ABCG1 способствует пролиферации клеток рака легкого HKULC4. Кроме того, было выявлено, что ABCG1 регулирует пролиферацию и апоптоз в ассоциированных с раковыми стволовых клетками HKULC4, подразумевая, что ABCG1 играет важную роль не только в регуляции пролиферации, но и апоптоза в раковых

стволовых клетках. Так же, было продемонстрировано, что ABCG1 способствует миграции и инвазии в клетках HKULC4 (Tian C., 2017).

ABCG2

ATP Binding Cassette Subfamily G Member 2, хромосомное месторасположение: 4q22.1 (PubMed, OMIM).

Продукт гена *ABCG2/BCRP* функционирует как переносчик ксенобиотиков, который может играть главную роль в устойчивости к множественным лекарственным средствам.

ABCG2 высоко экспрессируется в печеночных канальцевых мембранах, проксимальных канальцах почек и апикальных мембранах кишечного эпителия (Thiebaut F., 1987; Zhou S., 2005). Сверхэкспрессия *ABCG2* в клеточных линиях придает устойчивость к различным химиотерапевтическим препаратам (Allen J. D., 1999; Doyle L., 1999; Robey R. W., 2001), указывает на роль экспрессии *ABCG2* в раковых клетках как механизма устойчивости к химиотерапии. Так же *ABCG2* обнаружен в различных стволовых клетках и может защищать их от экзогенных и эндогенных токсинов. Экспрессия *ABCG2* повышается в условиях низкого содержания кислорода, что согласуется с его высокой экспрессией в тканях, подвергающихся воздействию среды с низким содержанием кислорода. ABCG2 взаимодействует с гемом и другими порфиринами и защищает клетки или ткани от накопления протопорфирина в условиях гипоксии (Krishnamurthy P., 2006).

ABCG2 транспортирует различные химически не связанные соединения, включая такие лекарства, как доксорубицин, даунорубицин, этопозид или метотрексат и его полиглутаматы (Krishnamurthy P.Schuetz J., 2006). Экспрессия опухолевого белка *ABCG2* может иметь значение для ответа пациентов с поздними стадиями НМРЛ, получавших терапию на основе платины (Yoh K., 2004).

В клеточных линиях полиморфный вариант C421A, в результате которого глутамин заменяет лизин в положении 141 (rs2231142), связан с дифференциальной активностью белка и чувствительностью к лекарственным средствам (Imai Y., 2002; Szakacs G., 2008; Campa D., 2012).

Глава 2. Материал и методы

В исследование было включено 69 больных немелкоклеточным раком легкого II-IIIB стадии, центральной и периферической локализации с морфологически верифицированным диагнозом. Исследование проходило в соответствии с Хельсинкской Декларацией 1964 г. (исправленной в 2013 г.) и с разрешения локального этического комитета института, все пациенты подписали информированное согласие на исследование. Больные находились на лечении в клинике НИИ онкологии Томского НИМЦ, которые в неоадъювантном режиме получали 2 курса химиотерапии по схеме винорельбин 25 мг/м^2 (1-й и 8-й дни)/карбоплатин AUC6 (во 2-й день) с интервалом 3 недели и последующей оценкой эффекта. Объективный ответ опухоли после неоадъювантного лечения определялся с помощью шкалы RECIST (van Meerten E. L. v. P., 2010). 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.

После НХТ пациентам проводилась операция в объеме пневмонэктомии или лобэктомии. Схема послеоперационной химиотерапии назначалась в зависимости от показаний. Основные клинико-морфологические параметры исследуемых больных представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Клинико-патологические параметры больных РЛ.

Клинико-патологический параметр		Количество больных (n=69)
Возраст (лет)	Средний	58 лет
	≤50 лет	61 (88,5%)
	>50 лет	8 (11,5%)
Размер опухоли	T_1 – до 1 см	3 (4%)
	T_2 – до 2 см	8 (12%)
	T_3 от 2 до 5 см	46 (66%)
	T_4 более 5 см	12 (18%)
Лимфогенное метастазирование	N_0	18 (26%)
	N_1	27 (39%)
	N_2	22 (32%)
	N_3	2 (3%)
Клинико-анатомической формы рака легкого	Центральный	33 (48%)
	Периферический	36 (52%)

Гистологический тип опухоли	Плоскоклеточный рак	47 (68%)
	Аденокарцинома	19 (27,5%)
	Крупноклеточный рак	2 (3%)
	Нейроэндокринная карцинома	1 (1,5%)
Эффект НХТ	Полная регрессия	2 (3%)
	Частичная регрессия	22 (32%)
	Стабилизация	45 (65%)
	Прогрессирование	0
Характер операции	Пневмонэктомия	27 (39%)
	Лобэктомия	42 (61%)

Примечание: T - размер опухоли; N - лимфогенное метастазирование

2.1 Материал для исследования

В качестве исследуемого материала были использованы биопсийные образцы (~1-5 мм^3) нормальной и опухолевой ткани легкого до лечения, а также операционный материал нормальной ткани легкого, нормальной ткани бронхов и опухолевой ткани (~60–70 мм^3) после НХТ. Образцы материала помещали в раствор RNAlater (Ambion, USA). После 24-часовой инкубации при +4ºС образцы опухоли сохраняли при температуре –80ºС для дальнейшего выделения РНК.

2.2 Методы

1. *Выделение РНК.* РНК выделяли из 69 парных биопсийных образцов нормальной и опухолевой ткани до лечения, а также из послеоперационных образцов (нормальная ткань легкого, нормальная ткань бронхов, опухолевая ткань) этого же пациента с помощью набора RNeasy Plus mini Kit (Qiagen, Germany) в соответствие с инструкцией производителя. Концентрация РНК измерялась при помощи флуориметра Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, USA) с использованием набора для количественной оценки РНК. Концентрация составила от 20 до 500 нг/мкл. Целостность РНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе Tape Station (Agilent Technologies, USA) и набора R6K Screen Tape. Показатель RIN составил 5,6 – 9,0 (Рисунок 2).

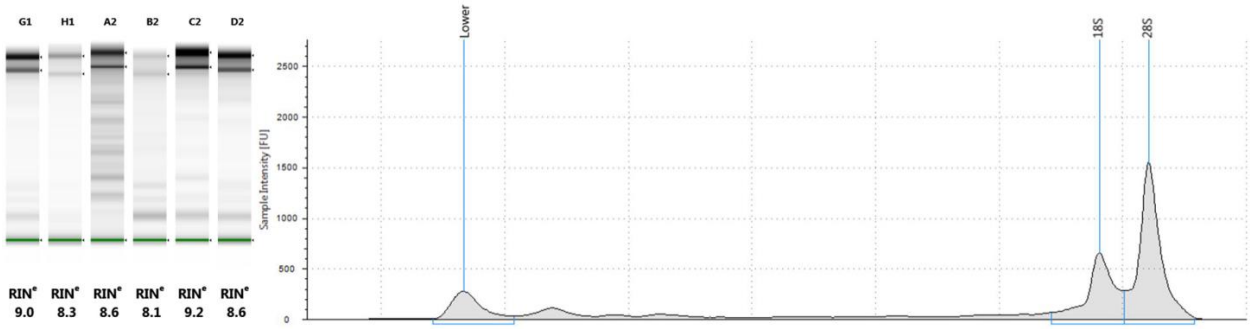


Рисунок 2 – Электрофореграмма и денситограмма тотальной РНК, выделенной из опухолевой ткани легкого при помощи набора RNeasy Mini Kit Plus (Qiagen, Germany).

Примечание: Капиллярный электрофорез выполнен на приборе TapeStation (Agilent Technologies, USA). Видны бенды 28S и 18S рибосомальной РНК и показатель целостности РНК - RIN (RNA Integrity Number) составил 8.3. Концентрация этого образца РНК – 323 нг/мкл.

Выделенная РНК хранилась при -80ºС в низкотемпературном морозильнике (Sanyo, Japan). Далее использовалась для оценки экспрессии генов при помощи количественной ПЦР с обратной транскрипцией (RT-qPCR).

2. Количественная Real-time qPCR. Уровень экспрессии исследуемых генов ABC-транспортеров: *ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCC5, ABCG1, ABCG2* оценивали при помощи количественной обратно-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) по технологии TaqMan на амплификаторе RotorGene-6000 (Corbett Research, Australia). Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора RevertAid™ (Thermo Fisher Scientific, USA) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией к набору. ПЦР ставили 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 25ºС, 16.6 мМ (NH4)2SO4, 0,01 % Tween-20), 2,5 ед. Hot Start Taq polymerase (Sibenzyme, Россия) и 50 нгк ДНК. Двухшаговая программа амплификации включала 1 цикл – 94ºС, 10 мин – предварительная денатурация; 40 циклов – 1 шаг 94ºС, 10 сек и 2 шаг 20 сек – при температуре 60ºС. Праймеры и зонды (FAM-BHQ1) были подобраны с использованием программы VectorNTI Advance 11.5 и базы данных NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore), (Таблица – 3).

Таблица 3 – Последовательности праймеров и зондов для генов-маркеров ABC-транспортеров, используемых в исследовании.

Гены	Последовательность
GAPDH (NM_002046.3) Amplicon 92 bp	F 5'-gccagccgagccacatc-3'
	R 5'-ggcaacaatatccactttaccaga-3'
	Probe 5'-cgcccaatacgaccaaatccg-3'
ACTB (NM_001101.3) Amplicon 73 bp	F 5'- gagaagatgacccagatcatgtt -3'
	R 5'- atagcacagcctggatagcaa -3'
	Probe 5'- agaccttcaacaccccagccat -3'
ABCB1 (NM_000927.4) Amplicon 93 bp	F 5'-gattgacagctacagcacgg-3'
	R 5'-ggtcgggtgggatagttga-3'
	Probe 5'-tgccgaacacattggaaggaaa-3'
ABCC1 (NM_004996.3) Amplicon 87 bp	F 5'-aggtgggctgcggaaag-3'
	R 5'-cggagcccttgatagcca-3'
	Probe 5'-tggctgagatggacaaagtggag-3'
ABCC2 (NM_000392.3) Amplicon 85 bp	F 5'-cctgtcggctctgggaa-3'
	R 5'-tgcccttgatggtgatgtg-3'
	Probe 5'-atgctgggagaaatggaaaatgt-3'
ABCC5 (NM_005688.2) Amplicon 76 bp	F 5'-caagagggtaaactggttgga-3'
	R 5'-ctaaaatggctgaaatgagagag-3'
	Probe 5'-ggcagtgtgggaagtggaaaa-3'
ABCG1 (NM_004915.3) Amplicon 78 bp	F 5'-cctactacctggccaagaccat-3'
	R 5'-agtacacgatgctgcagtaggc-3'
	Probe 5'-acgtgccctttcagatcatgttcccagt-3'
ABCG2 (NM_004827.2) Amplicon 97 bp	F 5'-aaaggatgtctaagcaggga-3'
	R 5'-tgaggccaataaggtgagg-3'
	Probe 5'-tcgaggctgatgaatggagaag-3'

Примечание: все пробы – FAM →BHQ1; NM – номер последовательности РНК в NCBI Nucleotide Database (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore); bp – base pair; F – прямой праймер; R – обратный праймер.

Проверку чистоты ПЦР-продуктов проводили с помощью набора Agilent D1000 ScreenTape Assay, позволяющий анализировать качество и чистоту полученного ампликона от 35 до 1000 bp.

В качестве гена-рефери использовались два гена: *GAPDH* (glyceraldehydes-3-phosphatedehydrogenase) и *ACTB* (actin beta), уровень экспрессии генов нормализовался по отношению к экспрессии данных генов и измерялся в условных единицах. Относительная экспрессия генов была оценена с помощью метода Pfaffl и следующая формула (1) использовалась для того, чтобы определить отношение экспрессии между образцом и калибратором:

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

где E – эффективность реакции, Ct пороговый цикл генов мишеней (target) и гена-реферри (ref). ΔCt, target(calibrator – test) = Ct гена мишени в калибраторе минус Ct гена мишени в опытном образце; ΔCt, ref(calibrator – test) = Ct гена-рефери в калибраторе минус Ct гена-рефери в опытном образце (Pfaffl M. W., 2001). В качестве калибратора использовалась РНК, выделенная из нормальной ткани легкого, полученной до лечения и во время операции от конкретного больного. На рисунке 3 представлены кинетические и стандартная калибровочная кривые для гена рефери *GAPDH*.

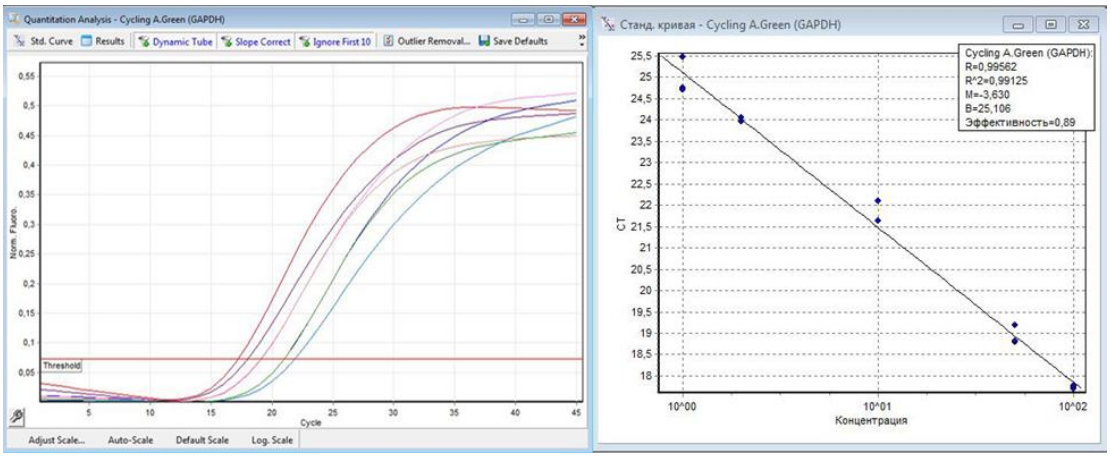


Рисунок 3 – Кинетические кривые амплификации и стандартная кривая для количественной ПЦР гена рефери *GAPDH*.

Таким образом, в качестве результата использовалось различие в экспрессии генов *ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCC5, ABCG1, ABCG2* относительно *GAPDH* и нормальной ткани легкого.

3. База данных. Для выполнения исследований была создана электронные базы данных для регистрации пациентов со злокачественными новообразованиями рака легкого, обратившихся в клинику НИИ онкологии. На электронную базу данных получено регистрационное: Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2017620873 от 10 августа 2017 г. «База данных экспрессионных и клинико-патологических параметров пациентов с диагнозом рак легкого». База является основой при проведении исследований с целью оптимизации стратегии химиотерапии рака легкого на основе факторов химиорезистентности и химиочувствительности. В базе ведется учет состояния больного при первичном обращении и после проведенного химиотерапевтического и операционного, а также представлены подробные гистоморфологические характеристики опухоли для последующего сопоставления с экспрессионными профилями опухолевой ткани пациентов в процессе химиотерапии. Электронная база данных позволяет проводить многоаспектный поиск по любому полю или совокупности полей входного формата, систематизировать отобранный массив, а

также проводить просмотр и распечатку сведений по заданным условиям с расположением полей в удобной последовательности. База рабочая, постоянно пополняется.

4. Статистическая обработка результатов. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica 8.0» (StatSoft Inc., USA). Для каждой выборки вычисляли среднее арифметическое и среднюю квадратичную ошибку. Для проверки гипотезы о значимости различий между исследуемыми группами использовали критерий Вилкоксона-Манна-Уитни. В отдельных случаях использовали логистическую регрессию для определения связи изучаемых параметров. Различия между исследуемыми группами считались статистически значимыми при уровне значимости $p<0,05$. Для анализа безрецидивной и общей выживаемости использовались кривые выживаемости, построенные по методу Каплана-Майера (Kaplan E. L., 1958). Сравнение статистической значимости различий между группами производилось с помощью log-rank теста. Сравнение частот по качественным данным анализировали при помощи двухстороннего критерия Фишера.

Глава 3. Результаты и обсуждение

3.1 Оценка уровня экспрессии исследуемых генов ABC-транспортеров

Всего в исследовании была оценена экспрессия 6 генов ABC-транспортеров как до лечения, так и после НХТ (Рисунок 4).

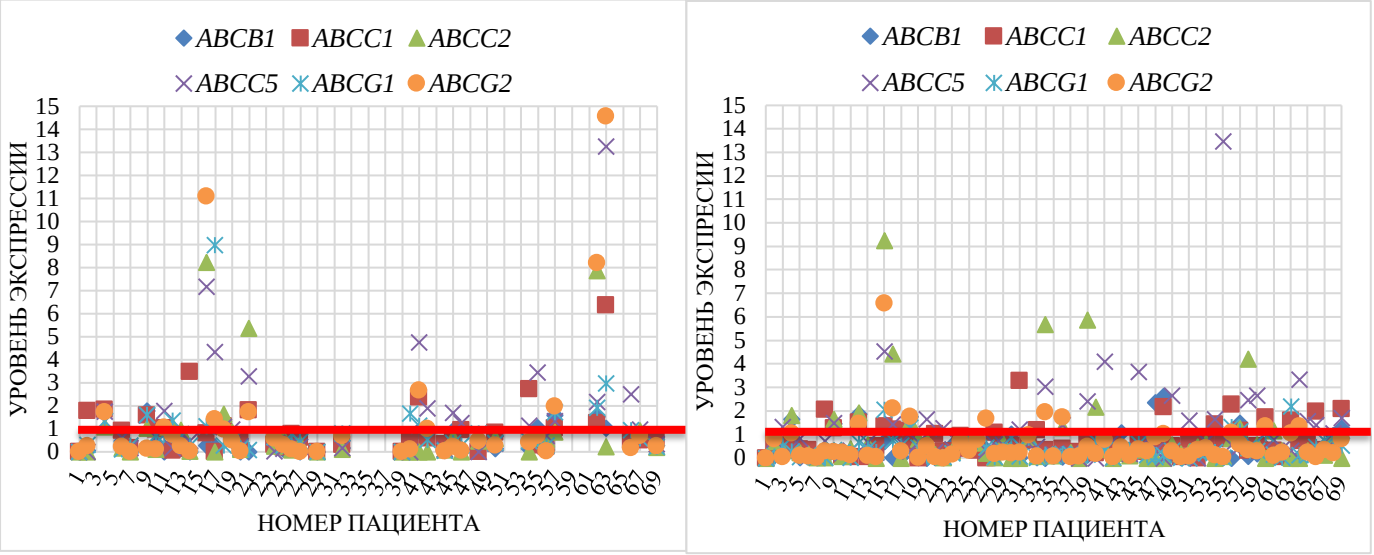


Рисунок 4 – Уровень экспрессии генов ABC-транспортеров в опухолевой ткани до лечения (А), после НХТ (Б).

Показано, что уровень экспрессии генов ABC-транспортёров изменился после проведения НХТ. Многие гены стали активно экспрессироваться, чего не было до проведения лечения (Рисунок 4; А, Б)

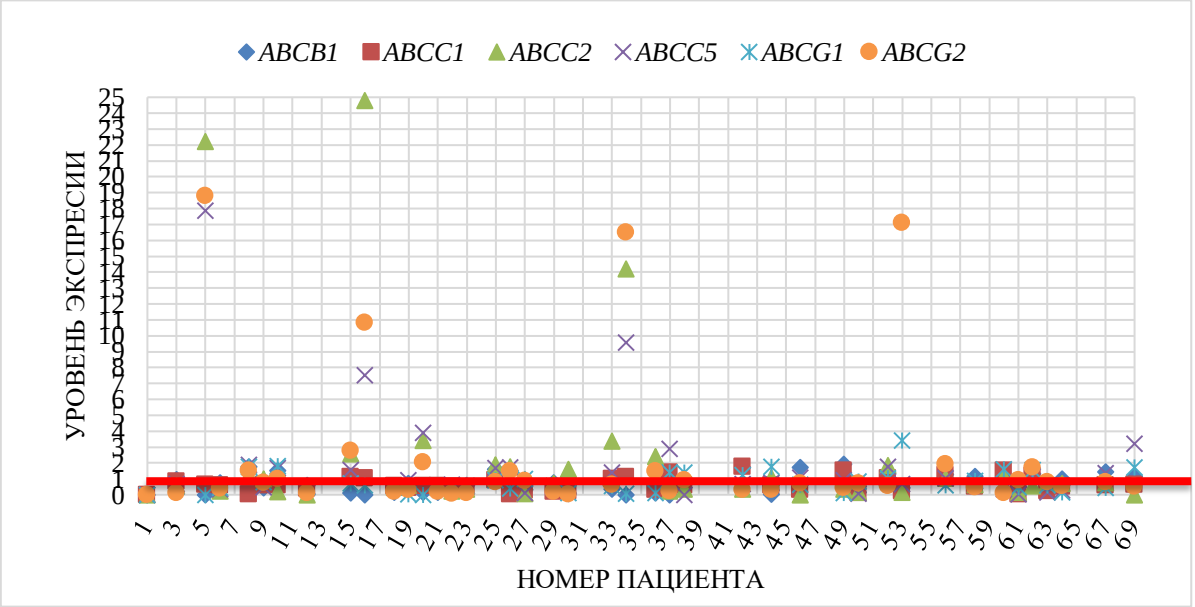


Рисунок 5 – Уровень экспрессии генов ABC-транспортеров в нормальной ткани бронхов.

Кроме этого, было установлено, что в нормальной ткани бронхов экспрессия генов: *ABCB1* и *ABCG1* после проведения НХТ значительно выше, чем в опухолевой ткани (Рисунок 5), т.е. противоопухолевые химиопрепараты накапливаются больше в опухолевой ткани легких, а не в бронхах.

Далее мы оценили связь экспрессии исследуемых генов с основными клинико-патологическими параметрами пациентов: возрастом, размером опухоли, лимфогенным метастазированием, анатомической формой, гистологическим типом опухоли. В результате анализа экспрессии 69 больных НМРЛ было установлено, что экспрессия генов МЛУ слабо коррелирует с клинико-патологическими параметрами пациентов (Таблица 4, Таблица 5, Таблица 6).

Установлено, что в группе с лимфогенным метастазированием N_{1-3}, уровень экспрессии гена *ABCB1* в биопсийном материале, выше, чем в группе N_0 (p=0,02). Наши данные согласуются с данными литературы. В исследовании показано, что лимфогенное метастазирование связано с высоким уровнем экспрессии гена *ABCB1* (Sparreboom A., 2003; Vrabec Branica B., 2010; ЦЫГАНОВ М., 2015) (Таблица 4). У пациентов группы T_2 послеоперационный уровень экспрессии гена *ABCC5* статистически значимо ниже, по сравнению с группой T_{3-4} (p=0,04). Что может обусловливать более низкую чувствительность и высокую резистентность опухоли больных с $T_{3–4}$ к химиотерапии (Savaraj N., 1997). Исследования Berger W. et al. в 2005 году установили, что экспрессия генов *ABCB1* и *ABCC1* не коррелируют с клинико-морфологическими параметрами, в частности с размером опухоли (Berger W., 2005). Кроме этого, было показано, что у больных с аденокарциномой уровень экспрессии *ABCB1* и *ABCC2* статистически значимо выше, чем у пациентов с плоскоклеточным гистологическим типом (при p=0,04 и p=0,01, соответственно), (Таблица 5).

Так же, как и в наших исследованиях, в работе Filipits M. с коллегами не показана связь *ABCC1* с гистотипом опухоли (Rudas M., 2003). Но этим же автором было установлено, что у N_0 больных статистически значимо чаще наблюдалось отсутствие экспрессии *ABCC1* в опухоли легкого, по сравнению с пациентами N_{1-2}, а экспрессия *ABCC1* не связана с размером опухоли (Rudas M., 2003).

Таблица 4 - Связь начального уровня экспрессии генов ABC-транспортеров с клинико-патологическими параметрами пациентов.

Клинико-морфологические параметры		***ABCB1***	***ABCC1***	***ABCC2***	***ABCC5***	***ABCG1***	***ABCG2***
Размер опухоли	T_2	0,43±0,09	1,0±0,21	0,98±0,34	1,65±0,45	0,97±0,26	1,48±0,54
	T_{3-4}	0,6±0,26	0,75±0,26	0,44±0,19	1,14±0,41	0,64 ±0,19	0,37±0,27
	p-value	0,68	0,9	0,92	0,95	0,9	0,11
Лимфогенное метастазирование	N_0	**0,31±0,06**	1,01±0,25	0,68±0,29	1,61±0,53	0,94±0,32	0,36±0,62
	N_{1-3}	**0,76±0,19**	1,84±0,16	1,43±0,72	1,48±0,28	1,87±0,17	1,22±0,61
	p-value	**0,02**	0,66	0,12	0,11	0,29	0,95
Клинико-анатомическая форма	Центральный рак	0,41±0,12	0,99±0,18	1,26±0,5	1,37±0,36	1,01±0,38	1,28±0,57
	Периферический рак	0,51±0,1	0,91±0,34	0,43±0,09	1,83±0,74	0,8±0,16	1,37±0,79
	p-value	0,19	0,25	0,94	0,99	0,47	0,79
Гистологический тип опухоли	Плоскоклеточный рак	0,48±0,09	0,9±0,16	0,79±0,32	1,27±0,24	***0,87±0,3***	0,83±0,29
	Аденокарцинома	0,4±0,15	1,09±0,49	1,17±0,62	2,39±1,25	***1,02±0,23***	2,49 ±1,41
	p-value	0,7	0,76	0,19	0,85	***0,1***	0,33
Возраст	>50 лет	0,23±0,08	0,64±0,16	0,09±0,02	0,38±0,1	0,4±0,15	**0,1±0,03**
	≤50 лет	0,48±0,09	1,00±0,2	1,02±0,33	1,74±0,43	0,99±0,25	**1,48±0,52**
	p-value	0,69	0,84	0,22	0,13	0,18	**0,03**

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

Таблица 5 - Связь уровня экспрессии генов ABC-транспортеров после НХТ с клинико-патологическими параметрами пациентов.

Клинико-морфологические параметры		***ABCB1***	***ABCC1***	***ABCC2***	***ABCC5***	***ABCG1***	***ABCG2***
Размер опухоли	T_2	0,43±0,62	0,72±0,08	0,75±0,20	**1,15±0,25**	0,40±0,06	0,59±0,13
	T_{3-4}	0,5±0,13	0,83±0,16	1,4±0,64	**1,56±0,33**	0,44±0,08	0,46±0,14
	p-value	0,17	0,92	0,36	**0,04**	0,17	0,65
Лимфогенное метастазирование	N_0	0,43±0,09	0,74±0,1	0,78±0,25	***1,21±0,32***	0,42±0,07	0,62±0,15
	N_{1-3}	0,46±0,1	0,72±0,11	0,95±0,29	***1,2±0,19***	0,37±0,07	0,47±0,11
	p-value	0,65	0,8	0,12	***0,09***	0,86	0,8
Клинико-анатомическая форма	Центральный рак	0,43±0,11	0,85±0,13	0,97±0,32	1,07±0,16	0,41±0,08	0,64±0,2
	Периферический рак	0,44±0,09	0,62±0,08	0,71±0,22	1,33±0,39	0,39±0,07	0,49±0,09
	p-value	0,41	0,26	0,77	0,46	0,93	0,97
Гистологический тип опухоли	Плоскоклеточный рак	**0,4±0,09**	0,81±0,1	**0,71±0,23**	***1,4±0,29***	0,37±0,06	0,55±0,14
	Аденокарцинома	**0,54±0,11**	0,53±0,1	**1,16±0,33**	***0,74±0,16***	0,48±0,11	0,6±0,15
	p-value	**0,04**	0,12	**0,01**	***0,09***	0,19	0,34
Возраст	>50 лет	0,24±0,06	0,47±0,11	1,16±0,81	1,25±0,43	0,45±0,17	0,79±0,58
	≤50 лет	0,48±0,08	0,78±0,09	0,78±0,17	1,2±0,24	0,39±0,05	0,52±0,07
	p-value	0,96	0,16	0,83	0,96	0,81	0,23

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

Таблица 6 – Связь уровня экспрессии генов ABC-транспортеров в нормальной ткани бронхов с клинико-патологическими параметрами пациентов.

Клинико-морфологические параметры		***ABCB1***	***ABCC1***	***ABCC2***	***ABCC5***	***ABCG1***	***ABCG2***
Размер опухоли	T_2	0,75±0,10	0,67±0,07	2,42±0,9	1,84±0,53	0,79±0,11	0,34±0,78
	T_{3-4}	0,76±0,34	0,40±0,09	0,61±0,35	0,79±0,47	0,93±0,34	0,59±0,22
	p-value	0,93	0,27	0,44	0,62	0,44	0,61
Лимфогенное метастазирование	N_0	0,65±0,1	0,63±0,06	2,64±1,22	2,01±0,7	0,82±0,14	2,45±0,98
	N_{1-3}	0,9±0,16	0,65±0,14	1,59±0,85	1,33±0,6	0,78±0,15	1,72±0,99
	p-value	0,19	0,57	1	0,31	0,82	0,61
Диагноз	Центральный рак	0,8±0,13	0,74±0,09	2,03±1,27	1,4±0,42	0,71±0,12	1,31±0,55
	Периферический рак	0,7±0,13	0,55±0,09	2,42±108	2,04±0,82	0,88±0,16	2,88±1,2
	p-value	0,54	0,12	0,63	0,92	0,59	0,31
Гистология	Плоскоклеточный рак	0,79±0,11	0,7±0,08	1,62±0,75	1,69±0,62	0,89±0,14	1,94±0,83
	Аденокарцинома	0,65±0,15	0,49±0,09	3,64±2,04	1,92±0,83	0,61±0,11	2,68±1,39
	p-value	0,5	0,2	0,74	0,57	0,47	0,47
Возраст	>50 лет	0,91±0,24	0,65±0,18	0,85±0,31	0,95±0,22	0,76±0,22	0,91±0,3
	≤50 лет	0,7±0,09	0,63±0,07	2,57±1	1,96±0,61	0,81±0,12	2,47±0,87
	p-value	0,46	0,7	0,72	0,94	0,79	0,94

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

3.2 Связь экспрессии генов ABC-транспортеров с эффективностью НХТ.

Оценка связи начального уровня экспрессии исследуемых генов с эффективностью неоадъювантной химиотерапии показала, что уровень экспрессии генов ABC-транспортеров до лечения никак не влияет на эффект неоадъювантной химиотерапии. Статистически значимых значений обнаружено не было (Рисунок 6).

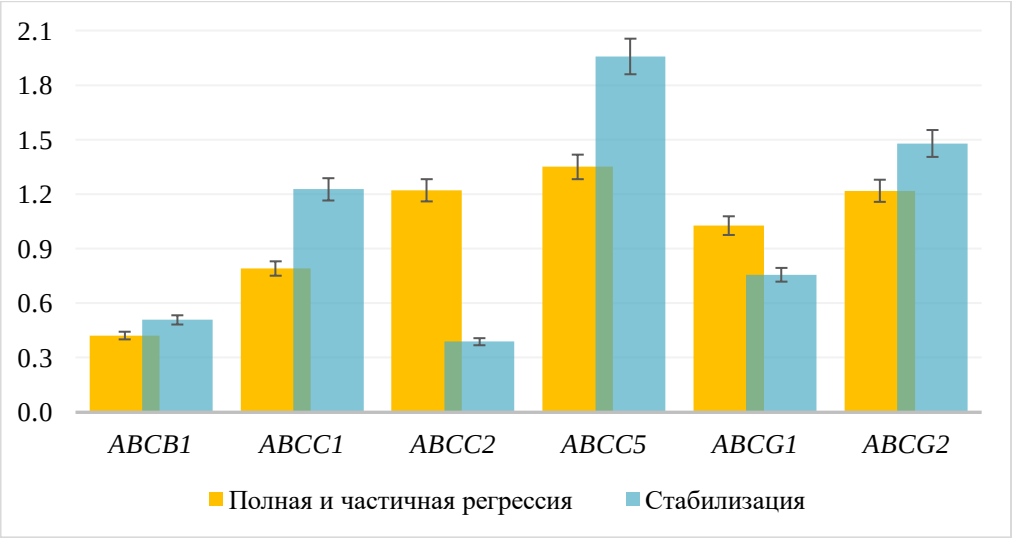


Рисунок 6 – Связь начального уровня экспрессии генов ABC-транспортеров с эффектом неоадъювантной химиотерапии.

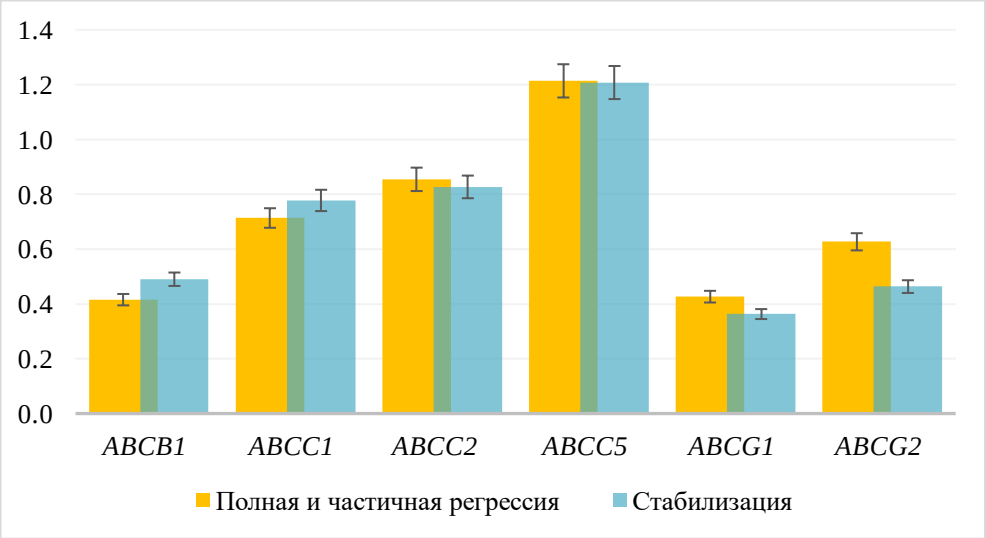


Рисунок 7 – Связь послеоперационного уровня экспрессии генов ABC-транспортеров после НХТ с эффектом лечения.

После проведения НХТ была оценена экспрессия генов МЛУ в опухолевой ткани у больных с частичной регрессией и стабилизацией (Рисунок 7). Статистически значимых различий не установлено. Ранее на опухоли молочной железы были установлены аналогичные результаты (Vrabec Branica B., 2010; Литвяков Н. В., 2013).

В одном из ранних наших исследований было установлено, что с эффектом НХТ на уровне выраженной тенденции ассоциирован послеоперационный уровень экспрессии гена *ABCB1*. Пациенты с частичной регрессией имели уровень экспрессии выше, чем при эффекте стабилизации. Но статистически значимых различий установлено не было, что согласуется с результатами наших исследований (Цыганов М. М., 2016).

В исследованиях Li J. с коллегами было выявлено, что пациенты с низкой экспрессией *ABCC1* обладали значительно лучшим гистопатологическим ответом, демонстрировали более высокую БМВ, чем пациентов с высоким экспрессией *ABCC1* в биопсийном материале опухоли легкого (Li J., 2010). Их результаты согласуются с экспериментами *in vitro*, которые показывают, что экспрессия *ABCC1* в клеточной линии НМРЛ коррелирует с резистентностью к цисплатину (Young L. C., 2001). Тем не менее, в исследованиях Yoh K. с соавт. не было обнаружено корреляции между экспрессией белка ABCC1 и ответом на лечении на основе платины (Yoh K., 2004).

В другом исследовании, Filipits M. и др. изучали прогностическую ценность экспрессии *ABCC1* у пациентов с полной регрессией НМРЛ, никаких статистически значимых результатов не было получено (Filipits M., 2004). Также можно найти литературу, где экспрессия тех же генов изучена и в других локализациях. В одном из исследований был проведен анализ предтерапевтического уровня экспресии генов у больных с раком пищевода с учетом ответа на НХТ. Было обнаружено, что jтветившие на лечение пациенты показали достоверно более высокие уровни предтерапевтической экспрессии *ABCC1* (p=0,007), к тому же имели преимущества безрецидивной выживаемости после операции (Langer R., 2005).

3.3 Оценка прогностической значимости экспрессии генов ABC-транспортеров

Поскольку уровень экспрессии генов нормализовался по отношению к экспрессии генов-рефери и экспрессии в нормальной ткани легкого каждого пациента по методу Pfaffl и измерялся в условных единицах, то для выявления связи показателей экспрессии с выживаемостью мы воспользовались статистическими характеристиками нашей выборки по уровню экспрессии. Если уровень экспрессии гена был больше 1 (выше, чем в нормальной ткани), то констатировали гиперэкспрессию, если уровень экспрессии гена был меньше 1 (ниже, чем в нормальной ткани), то констатировали.

Было установлено, что при гипоэкспресии гена *ABCB1* после проведения лечения показатель 4-летней метастатической выживаемости выше, чем при гиперэкспресии (log rank test p=0,003) (Рисунок 8). Показатель выживаемости при гипоэкспрессии составляет 73%, против 31% в другой группе пациентов.

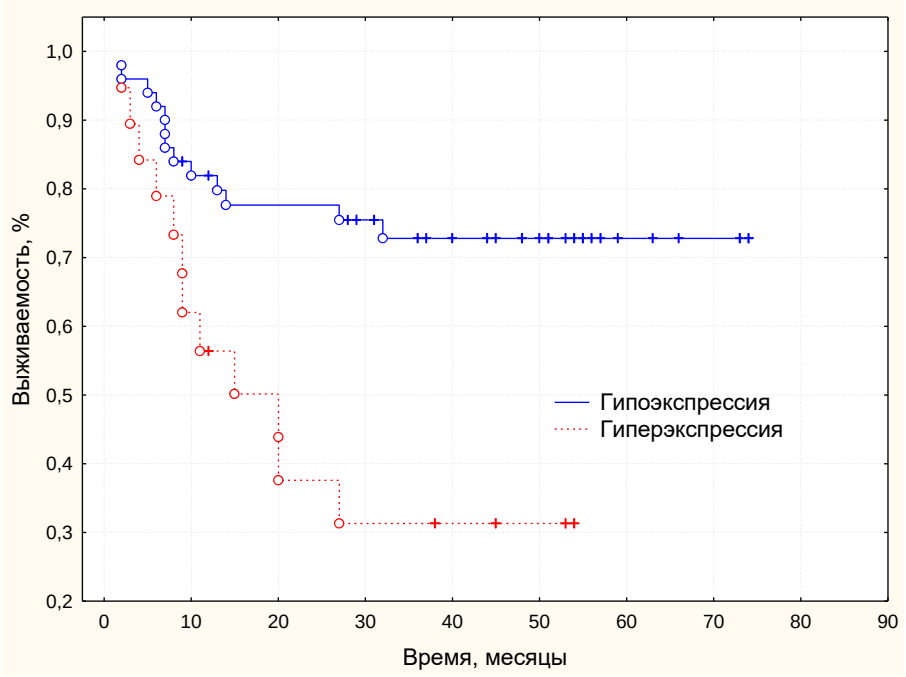
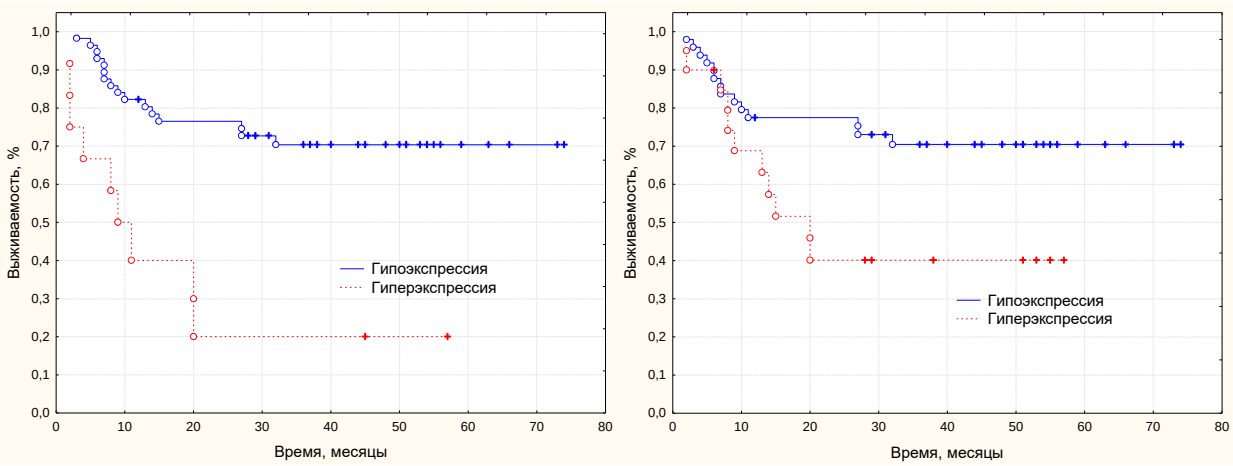


Рисунок 8 – Безметастатическая выживаемость больных немелкоклеточным раком легкого в зависимости от послеоперационного уровня экспрессии гена *ABCB1* (log rank test p=0,003).



А Б

Рисунок 9 – Безметастатическая выживаемость больных немелкоклеточным раком легкого в зависимости от послеоперационного уровня экспрессии генов *ABCG1* и *ABCG2* (log rank test p=0,001, p=0,03 соответственно).

Аналогичный результат был показан для генов *ABCG1* и *ABCG2* (Рисунок 9). При гипоэкспресии *ABCG1* показатель безметастатической выживаемости составили 70%, при гиперэкспрессии всего 20%. Различия статистически значимые, log rank test p=0,001). Для гена *ABCG2* показатели для групп соответственно составили 70% и 40% (p=0,03).

В еще одном из наших исследований можно найти подтверждение приведенных выше результатов. В нём проводилась оценка начального и послеоперационного уровня исследуемых генов ABC. Было показано, что изменение экспрессии генов *ABCB1* и *ABCC1*

сопряжено с более высокой безрецидивной выживаемостью больных НМРЛ. Снижение экспрессии этих генов давало более высокий уровень выживаемости по сравнению с группой гиперэкспрессии.(log rank test p=0,02 и 0,04, соответственно для генов *ABCB1* и *ABCC1*) (Цыганов М. М., 2016). Полученные результаты так же подтверждаются исследованиями зарубежных исследований. Так было показано, что повышенное содержание продукта гена *ABCB1* показал тенденцию к худшей выживаемости по сравнению с пациентами, у которых данного белка в тканях оказалось меньше. Однако статистически значимых значений не было получено. Таким образом, авторы предположили, что экспрессия *ABCB1* была связана с возможность. возникновения метастазов (Zou F., 2017).

Хотя высокие уровни экспрессии *ABCC1* часто наблюдаются в образцах пациентов с НМРЛ, прогностическая значимость *ABCC1* остается спорным (Fang L., 2018). В некоторых исследованиях сообщалось, что гиперэкспрессия *ABCC1* чаще имела неблагоприятный прогноз по сравнению с гипоэкспрессией. Однако другое исследование показало, что высокая экспрессия *ABCC1* способствовала увеличению времени выживаемости пациентов (Berger W., 2005). В других же исследованиях сообщалось, что связи между экспрессией *ABCC1* и выживанием у пациентов с НМРЛ после применения платины не наблюдалось (Yoh K., 2004), что позже подтвердилось в дальнейших работах. Другое исследование показало, что нет существенной связи между экспрессией *MRP1* и прогнозом, а время общей выживаемости наблюдалось у полностью резецированных больных НМРЛ (Filipits M., 2007).

В исследованиях Stankovic T. с соавт. оценивалась прогностическая значимость экспрессии транспортеров ABC у пациентов с НМРЛ, существенной связи между экспрессией *ABCB1* и *ABCC1* и показателями выживаемости обнаружено не было (Stankovic T., 2019).

Также можно привести примеры исследований при других локализациях рака. В работе Полуднякова Л.В. и соавт. был рассмотрен уровень генов лекарственной устойчивости у больных раком яичников после проведения НХТ. Анализ связи экспрессии исследуемых генов с общей и безрецидивной выживаемостью больных достоверных различий не показал (Полуднякова Л. В., 2019).

3.4 Оценка предиктивной и прогностической значимости изменения экспрессии генов ABC-транспортеров у больных немелкоклеточным раком легкого

Следующий этап нашей работы заключался в изучении направления изменения экспрессии генов ABC-транспортеров в процессе лечения и связь с эффектом неоадъювантной химиотерапии и прогнозом у больных немелкоклеточным раком легкого. В предыдущих наших исследованиях на опухоли молочной железы были получены данные о связи эффекта НХТ с формированием фенотипа адаптивной МЛУ, который обусловлен

изменением экспрессии генов ABC-транспортеров в опухоли при проведении химиотерапии. Если в опухоли больных при действии химиопрепаратов повышается экспрессия ABC-транспортеров, то у таких больных формируется фенотип адаптивной МЛУ, и они не отвечают на НХТ. Если при воздействии НХТ экспрессия генов ABC в опухоли снижается, то у таких пациентов отмечается клинический ответ на НХТ (Litviakov N. V., 2013). В результате мы оценили связь изменения экспрессии генов ABC-транспортеров с эффективностью НХТ и прогнозом заболевания (Таблица 7).

Мы раздели количественные значения уровня экспрессии генов МЛУ в процессе НХТ на качественные показатели. Если у больных до лечения экспрессия гена была ниже, чем после проведения НХТ, то мы говорили о повышении экспрессии данного гена, в обратной ситуации или при отсутствии экспрессии мы говорили о снижении экспрессии. По данным качественным признакам провели сравнительный анализ, при помощи двухстороннего критерия Фишера, частот изменения экспрессии генов (снижение или повышение) в зависимости от эффективности НХТ (Таблица 7).

Таблица 7 – Частота изменение экспрессии генов исследуемых генов ABC в опухоли легкого в зависимости от эффекта НХТ.

Гены	ПР+ЧР	СТ	p-value
	Частота повышения/снижения	Частота повышения/снижения	
ABCB1	**7/17 (29%/71%)**	**33/12 (73%/27%)**	**0,0007**
ABCC1	10/14 (42%/58%)	19/26 (42%/58%)	0,80
ABCC2	14/10 (58%/42%)	30/15 (67%/33%)	0,60
ABCC5	5/19 (21%/79%)	10/35 (22%/78%)	1
ABCG1	14/10 (58%/42%)	33/12 (73%/27%)	0,27
ABCG2	10/14 (42%/58%)	19/26 (42%/58%)	0,80

Примечание: ПР+ЧР - полная и частичная регрессия; СТ - стабилизация

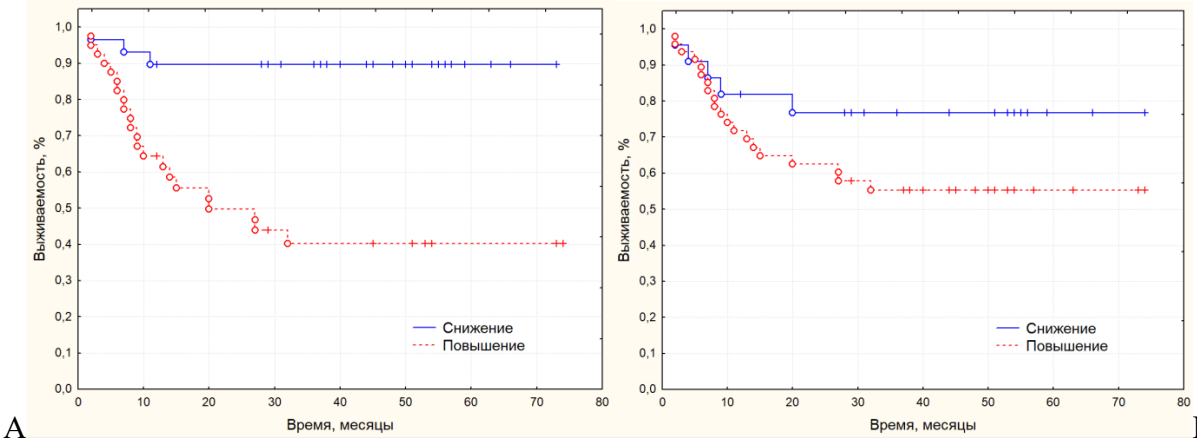
Было показано, что снижение уровня экспрессии гена *ABCB1* коррелирует с положительным ответом на химиотерапию (71% случаев), в то время как у пациентов со стабилизацией снижение экспрессии наблюдается только в 27% случаев (p=0,0007). Для остальных генов статистически значимых различий установлено не было, что может быть связанно с малочисленностью выборки.

В мировой литературе имеются единичные публикации о связи изменения экспрессии генов ABC в опухоли легкого с прогнозом заболевания. Как правило, большинство исследований сосредоточено на поиске ассоциаций непосредственно уровня экспрессии с эффектом лечения и выживаемостью пациентов (Fung S. W., 2019). Но как было ранее установлено такой подход является неверным с точки зрения понимания становления

адаптивной лекарственной устойчивости. Важен не уровень экспрессии данных генов, а его изменение в процессе лечения (Litviakov N. V., 2013).

В 2003 году было показано, что высокая экспрессия *ABCB1* связана с отсутствием ответа на химиотерапию при различных злокачественных новообразованиях, включая рак почки, печени и толстой кишки, а также лимфомы и при лейкемии (Ambudkar S. V., 2003). Позже было установлено, что высокий уровень экспрессии данного гена коррелировал с резистентностью к химиопрепаратам при раке простаты, раке легкого, в опухоли молочной железы, а также при нейробластомах (Munoz M., 2007). При этом исследования Matsuo K. с коллегами показали связь повышенной экспрессии *ABCB1* в опухолевой ткани, полученной при первоначальной циторедукции, с повышенным риском развития метастазов в головной мозг у женщин с эпителиальным раком яичника, маточной трубы, или перитонеальным раком (Matsuo M., 2010).

Далее, оказалось, что изменение экспрессии генов *ABCB1* и *ABCG1* сопряжено с безметастатической выживаемостью больных РЛ, (Рисунок 10) больных НМРЛ.



А Б

Рисунок 10 – Безметастатическая выживаемость больных немелкоклеточным раком легкого в зависимости от изменения уровня экспрессии генов *ABCB1* (А) и *ABCG1* (Б) (log rank test p=0,0001, p=0,1, соответственно).

Снижение экспрессии *ABCB1* ассоциировано с более высокими показателями выживаемости по сравнению с группой пациентов с повышением экспрессии, (log rank test p=0,0001), (Рисунок 9А). Установлено, что показатели 5-летней БМВ в первой группе составляют 90%, во второй – 40%. Для остальных генов статистически значимой связи изменения экспрессии с выживаемостью установлено не было.

Но стоит отметить связь экспрессии, на уровне выраженной тенденции, гена ABCG1. Аналогично ABCB1 в группе пациентов со снижением экспрессии данного гена в процессе

лечения показатели БМВ выше, чем в группе с повышением экспрессии (log rank test p=0,1), (Рисунок 9Б).

Исследования полиморфизмов генов ABC, и в том числе гена *ABCB1*, указывают на возможность влияния полиморфных вариантов на показатели общей и безрецидивной выживаемости. Так носительство мутантного или гетерозиготного генотипов полиморфизма *ABCB1* rs6979885 сопряжено с более лучшими показателями выживаемости (Campa D., 2012). Аналогично было показано и для гена *ABCG2*, у пациентов с наличием редкого генотипа полиморфизма *ABCG2* rs3109823 также наблюдались более высокие показатели общей и безрецидивной выживаемости. Это можно объяснить тем, что данные полиморфизмы участвуют в регуляции транскрипции данных генов, что напрямую связано с уровнем их экспрессии (http://compbio.cs.queensu.ca/F-SNP/). Исследования экспрессии генов *ABCC1* и *ABCB1* также показали связь с плохим ответом на химиотерапию (Hsia T.-C., 2002; Kuo T.-H., 2003). Высокий уровень данных генов был обнаружен при возникновении рецидивов (Triller N., 2006). Кроме этого было показано, что экспрессия *MRP1* является клинически значимой и может быть независимым предиктивным и прогностическим фактором в отношении клинического исхода у пациентов с раком легкого. Пациенты с высоким уровнем *MRP1* имели значительно меньшие показатели безрецидивной выживаемости (Yao S., 2014). В исследовании японских авторов показано, что наибольший вклад в уменьшение показателей безрецидивной и общей выживаемости больных НМРЛ вносит ген *ABCG2*, повышенный уровень экспрессии, которого ассоциирован с более высокой частотой рецидивирования и метастазирования (130 больных) (Han J. Y., 2007). При этом ассоциации экспрессии таких генов как, *ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCC3, ERCC1* и *BRCA1*, с показателями общей и безрецидивной выживаемостью показано не было (Booton R., 2007). Некоторыми авторами был представлен вклад генов *ABCB1* и *ABCC1* в показатели выживаемости больных раком легкого (Triller N., 2006).

Таким образом, было установлено, что изменение экспрессии некоторых генов ABC-транспортеров сопряжено с более высокими показателями безметастатической выживаемости, а также эффектом неоадъювантной химиотерапии. В частности, только для гена *ABCB1* была показана статистически значимая связь с прогнозом. Тем не менее, стоит отметить, что именно направление изменения экспрессии исследуемых генов химиорезистентности в процессе лечения играет важную роль в формировании адаптивной лекарственной устойчивости и эффективности проводимого лечения.

ВЫВОДЫ

1. Провели сравнение экспрессии генов ABC-транспортеров в биопсийном и операционном материале опухоли легкого, а так же в материале нормальной ткани бронхов.
2. Уровень экспрессии генов ABC-транспортеров слабо связан с основными клинико-морфологическими параметрами пациентов. Установлена только связь с возрастом для гена *ABCG2* в биопсийном материале, с размером опухоли для гена *ABCC5* в операционном материале, с лимфогенным метастазированием для гена *ABCB1* в биопсийном материале и с гистологическим типом опухоли для генов *ABCB1* и *ABCC2* в операционном материале.
3. Начальный уровень экспрессии генов ABC-транспортеров до лечения никак не влияет на эффект неоадъювантной химиотерапии. Оценка уровня экспрессии генов МЛУ после проведения НХТ в опухолевой ткани у больных с частичной регрессией и стабилизацией не показала статистически значимых различий.
4. Установлено, что при гипоэкспрессии генов *ABCB1, ABCG1, ABCG2* после проведения лечения показатель безметастатической выживаемости выше, чем при гиперэкспресии (p=0,003, p=0,001, p=0,03, соответственно).
5. При оценке предиктивной и прогностической значимости изменения экспрессии генов ABC-транспортеров у больных немелкоклеточным раком легкого было установлено, что изменение экспрессии *ABCB1* сопряжено с эффектом неоадъювантной химиотерапии. Снижение уровня экспрессии *ABCB1* в 71% случаев связан с положительным ответом на химиотерапию (p=0,0007) и более высокими показателями безметастатической выживаемости (log rank test p=0,0001).

Список литературы

1. The mouse Bcrp1/Mxr/Abcp gene: amplification and overexpression in cell lines selected for resistance to topotecan, mitoxantrone, or doxorubicin / J. D. Allen [et.al.] // Cancer research.- 1999.- Vol. 59, № 17. - P. 4237-4241.
2. P-glycoprotein: from genomics to mechanism / S. V. Ambudkar [et.al.] / Oncogene.- 2003.- Vol. 22, № 47. - P. 7468-7485.
3. A. Bader. Mechanisms of multidrug resistance in cancer / A. Bader // Cancer research.- 2014.
4. Expression of P-glycoprotein in high-grade osteosarcomas in relation to clinical outcome / N. Baldini [et.al.] // New England Journal of Medicine.- 1995.- Vol. 333, № 21. - P. 1380-1385.
5. Characterization of MOAT-C and MOAT-D, new members of the MRP/cMOAT subfamily of transporter proteins / M. G. Belinsky [et.al.] // Journal of the National Cancer Institute.- 1998.- Vol. 90, № 22. - P. 1735-1741.
6. Multidrug resistance markers P-glycoprotein, multidrug resistance protein 1, and lung resistance protein in non-small cell lung cancer: prognostic implications / W. Berger [et.al.] // Journal of cancer research and clinical oncology.- 2005.- Vol. 131, № 6. - P. 355-363.
7. Bernstein E. D.. Chemotherapy and Radiotherapy in the Treatment of Resectable Non–Small-Cell Lung Cancer / E. D. Bernstein, S. M. Herbert, N. H. Hanna // Annals of surgical oncology.- 2006.- Vol. 13, № 3. - P. 291-301.
8. . Biedler J. L. Cellular resistance to actinomycin D in Chinese hamster cells in vitro: cross-resistance, radioautographic, and cytogenetic studies / J. L. Biedler, H. Riehm // Cancer research.- 1970.- Vol. 30, № 4. - P. 1174-1184.
9. ERCC1 mRNA expression is not associated with response and survival after platinum-based chemotherapy regimens in advanced non-small cell lung cancer / R. Booton [et.al.] // Journal of Thoracic Oncology.- 2007.- Vol. 2, № 10. - P. 902-906.
10. Polymorphism of the MDR1/ABCB1 C3435T drug-transporter and resistance to anticonvulsant drugs: A meta-analysis / F. G. Bournissen [et.al.] // Epilepsia.- 2009.- Vol. 50, № 4. - P. 898-903.
11. Brambila-Tapia A. J. L. MDR1 (ABCB1) polymorphisms: functional effects and clinical implications // Revista de investigacion clinica.- 2013.- Vol. 65, № 5. - P. 445-454.
12. Adjuvant chemotherapy for resected early-stage non-small cell lung cancer / S. Burdett [et.al.] // Cochrane Database of Systematic Reviews.- 2015.- Vol. 3.

13. A comprehensive study of polymorphisms in ABCB1, ABCC2 and ABCG2 and lung cancer chemotherapy response and prognosis / D. Campa [et.al.] // International Journal of Cancer.- 2012.- Vol. 131, № 12. - P. 2920-2928.

14. Chang X. Molecular mechanism of ATP-dependent solute transport by multidrug resistance-associated protein 1 //Multi-Drug Resistance in Cancer. – Humana Press.- 2010.- P. 223-249.

15. Chen C. Lithium insertion into spinel ferrites / C. Chen, M. Greenblatt, J. Waszczak // Solid State Ionics.- 1986.- Vol. 18, № - P. 838-846.

16. Early stage and locally advanced (non-metastatic) non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up / L. Crino [et.al.] // Annals of Oncology.- 2010.- Vol. 21, № suppl_5. - P. v103-v115.

17. Adjuvant chemotherapy for non–small-cell lung cancer in the elderly: a population-based study in Ontario, Canada / S. Cuffe [et.al.] // Journal of Clinical Oncology.- 2012.- Vol. 30, № 15. - P. 1813-1821.

18. Drug resistance and ATP-dependent conjugate transport mediated by the apical multidrug resistance protein, MRP2, permanently expressed in human and canine cells / Y. Cui [et.al.] // Molecular pharmacology.- 1999.- Vol. 55, № 5. - P. 929-937.

19. 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 [et.al.] // The lancet oncology.- 2006.- Vol. 7, № 9. - P. 719-727.

20. Extent of chest wall invasion and survival in patients with lung cancer / R. J. Downey [et.al.] // The Annals of thoracic surgery.- 1999.- Vol. 68, № 1. - P. 188-193.

21. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells / L. Doyle [et.al.] // Proc Natl Acad Sci USA.- 1999.- Vol. 96, № 5. - P. 2569.

22. Basolateral localization and export activity of the human multidrug resistance-associated protein in polarized pig kidney cells / R. Evers [et.al.] // The Journal of clinical investigation.- 1996.- Vol. 97, № 5. - P. 1211-1218.

23. Faber K. N. Drug transport proteins in the liver / K. N. Faber, M. Müller, P. L. Jansen // Advanced drug delivery reviews.- 2003.- Vol. 55, № 1. - P. 107-124.

24. Mathematical optimisation of the cisplatin plus etoposide combination for managing extensive-stage small-cell lung cancer patients / C. Faivre [et.al.] // British journal of cancer.- 2017.- Vol. 116, № 3. - P. 344.

25. Prognostic role of multidrug resistance-associated protein 1 expression and platelet count in operable non-small cell lung cancer / L. Fang [et.al.] // Oncology Letters.- 2018.- Vol. 16, № 1. - P. 1123-1132.

26. Fardel O. The P-glycoprotein multidrug transporter / O. Fardel, V. Lecureur, A. Guillouzo // General Pharmacology: The Vascular System.- 1996.- Vol. 27, № 8. - P. 1283-1291.

27. Preoperative chemotherapy plus surgery versus surgery plus adjuvant chemotherapy versus surgery alone in early-stage non–small-cell lung cancer / E. Felip [et.al.] // Journal of Clinical Oncology.- 2010.- Vol. 28, № 19. - P. 3138-3145.

28. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 / J. Ferlay [et.al.] // International Journal of Cancer.- 2015.- Vol. 136, № 5. - P. E359-E386.

29. Filipits M. Mechanisms of cancer: multidrug resistance // Drug discovery today: Disease mechanisms.- 2004.- Vol. 1, № 2. - P. 229-234.

30. Multidrug resistance proteins do not predict benefit of adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non–small cell lung cancer: International Adjuvant Lung Cancer Trial Biologic Program / M. Filipits [et.al.] // Clinical Cancer Research.- 2007.- Vol. 13, № 13. - P. 3892-3898.

31. Tissue distribution of the multidrug resistance protein / M. J. Flens [et.al.] // The American journal of pathology.- 1996.- Vol. 148, № 4. - P. 1237.

32. Expression of a multidrug-resistance gene in human tumors and tissues / A. Fojo [et.al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences.- 1987.- Vol. 84, № 1. - P. 265-269.

33. Fromm M. P-glycoprotein: a defense mechanism limiting oral bioavailability and CNS accumulation of drugs // International journal of clinical pharmacology and therapeutics.- 2000.- Vol. 38, № 2. - P. 69-74.

34. Fromm M. Importance of P-glycoprotein for drug disposition in humans // European journal of clinical investigation.- 2003.- Vol. 33, № s2. - P. 6-9.

35. The ATP-binding cassette transporter ABCF1 is a hepatic oncofetal protein that promotes chemoresistance, EMT and cancer stemness in hepatocellular carcinoma / S. W. Fung [et.al.] // Cancer letters.- 2019.- Vol. 457, № - P. 98-109.

36. Redefining the relevance of established cancer cell lines to the study of mechanisms of clinical anti-cancer drug resistance / J.-P. Gillet [et.al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences.- 2011.- Vol. 108, № 46. - P. 18708-18713.

37. 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 [et.al.] // Journal of Thoracic Oncology.- 2007.- Vol. 2, № 8. - P. 706-714.

38. Gottesman M. M. Multidrug resistance in cancer: role of ATP–dependent transporters / M. M. Gottesman, T. Fojo, S. E. Bates // Nature Reviews Cancer.- 2002.- Vol. 2, № 1. - P. 48-58.

39. Group N. M.-a. C. Preoperative chemotherapy for non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual participant data // The Lancet.- 2014.- Vol. 383, № 9928. - P. 1561-1571.

40. Associations of ABCB1, ABCC2, and ABCG2 polymorphisms with irinotecan-pharmacokinetics and clinical outcome in patients with advanced non-small cell lung cancer / J. Y. Han [et.al.] // Cancer.- 2007.- Vol. 110, № 1. - P. 138-147.

41. Hansen H. H. Lung Cancer Therapy Annual 6 // CRC Press.- 2008.- Vol. 6.

42. Hecht S. S. Cigarette smoking and lung cancer: chemical mechanisms and approaches to prevention // The lancet oncology.- 2002.- Vol. 3, № 8. - P. 461-469.

43. Gefitinib in combination with paclitaxel and carboplatin in advanced non–small-cell lung cancer: a phase III trial—INTACT 2 / R. S. Herbst [et.al.] // Journal of Clinical Oncology.- 2004.- Vol. 22, № 5. - P. 785-794.

44. Ho R. H. Transporters and drug therapy: implications for drug disposition and disease / R. H. Ho, R. B. Kim // Clinical Pharmacology & Therapeutics.- 2005.- Vol. 78, № 3. - P. 260-277.

45. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo / S. Hoffmeyer [et.al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences.- 2000.- Vol. 97, № 7. - P. 3473-3478.

46. Holland I. B. ABC-ATPases, adaptable energy generators fuelling transmembrane movement of a variety of molecules in organisms from bacteria to humans / I. B. Holland, M. A. Blight // Journal of molecular biology.- 1999.- Vol. 293, № 2. - P. 381-399.

47. Hollenstein K. Structure and mechanism of ABC transporter proteins / K. Hollenstein, R. J. Dawson, K. P. Locher // Current opinion in structural biology.- 2007.- Vol. 17, № 4. - P. 412-418.

48. Relationship between chemotherapy response of small cell lung cancer and P-glycoprotein or multidrug resistance-related protein expression / T.-C. Hsia [et.al.] // Lung.- 2002.- Vol. 180, № 3. - P. 173-179.

49. Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology in 2013 / J.-L. Huret [et.al.] // Nucleic acids research.- 2012.- Vol. - P. gks1082.

50. Combined interaction of multi-locus genetic polymorphisms in cytarabine arabinoside metabolic pathway on clinical outcomes in adult acute myeloid leukaemia (AML) patients / K. Im Kim [et.al.] // European Journal of Cancer.- 2013.- Vol. 49, № 2. - P. 403-410.

51. C421A Polymorphism in the Human Breast Cancer Resistance Protein Gene Is Associated with Low Expression of Q141K Protein and Low-Level Drug Resistance 1 Supported in part by grants from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan, and the Virtual Research Institute of Aging of Nippon

Boehringer Ingelheim. 1 / Y. Imai [et.al.] // Molecular Cancer Therapeutics.- 2002.- Vol. 1, № 8. - P. 611-616.

52. Active efflux of daunorubicin and adriamycin in sensitive and resistant sublines of P388 leukemia / M. Inaba [et.al.] // Cancer research.- 1979.- Vol. 39, № 6 Part 1. - P. 2200-2203.

53. ABCB1 expression in peptic ulcer patients and its connection with H. pylori Infection / M. Jażdżyk [et.al.] // Annals of Clinical & Laboratory Science.- 2014.- Vol. 44, № 3. - P. 294-297.

54. ABCC2/Abcc2: a multispecific transporter with dominant excretory functions / K. Jemnitz [et.al.] // Drug metabolism reviews.- 2010.- Vol. 42, № 3. - P. 402-436.

55. Jiye Y. Multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1/ABCC1) polymorphism: from discovery to clinical application / Y. Jiye, Z. Jianting // Zhong nan da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Central South University. Medical sciences.- 2011.- Vol. 36, № 10. - P. 927.

56. Kaplan E. L. Nonparametric estimation from incomplete observations / E. L. Kaplan, P. Meier // Journal of the American statistical association.- 1958.- Vol. 53, № 282. - P. 457-481.

57. Kastelijn E. A. Treatment of oncogene-driven non-small cell lung cancer / E. A. Kastelijn, A. J. de Langen, B. J. Peters // Current opinion in pulmonary medicine.- 2019.- Vol. 25, № 3. - P. 300-307.

58. Kerr I. D. The ABCG family of membrane-associated transporters: you don't have to be big to be mighty / I. D. Kerr, A. J. Haider, I. C. Gelissen // British journal of pharmacology.- 2011.- Vol. 164, № 7. - P. 1767-1779.

59. Analysis of expression of cMOAT (MRP2), MRP3, MRP4, and MRP5, homologues of the multidrug resistance-associated protein gene (MRP1), in human cancer cell lines / M. Kool [et.al.] // Cancer research.- 1997.- Vol. 57, № 16. - P. 3537-3547.

60. Krishnamurthy P. Role of ABCG2/BCRP in biology and medicine / P. Krishnamurthy, J. Schuetz // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.- 2006.- Vol. 46, № - P. 381-410.

61. To predict response chemotherapy using technetium-99m tetrofosmin chest images in patients with untreated small cell lung cancer and compare with p-glycoprotein, multidrug resistance related protein-1, and lung resistance-related protein expression / T. H. Kuo [et.al.] // Nuclear medicine and biology.- 2003.- Vol. 30, № 6. - P. 627-632.

62. Lang-Lazdunski L. Surgery for nonsmall cell lung cancer // European Respiratory Review.- 2013.- Vol. 22, № 129. - P. 382-404.

63. Association of pretherapeutic expression of chemotherapy-related genes with response to neoadjuvant chemotherapy in Barrett carcinoma / R. Langer [et.al.] // Clinical Cancer Research.- 2005.- Vol. 11, № 20. - P. 7462-7469.

64. Association of expression of MRP1, BCRP, LRP and ERCC1 with outcome of patients with locally advanced non-small cell lung cancer who received neoadjuvant chemotherapy / J. Li [et.al.] // Lung Cancer.- 2010.- Vol. 69, № 1. - P. 116-122.

65. Changing the expression vector of multidrug resistance genes is related to neoadjuvant chemotherapy response / N. V. Litviakov [et.al.] // Cancer chemotherapy and pharmacology.- 2013.- Vol. 71, № 1. - P. 153-163.

66. Customized Adjuvant Chemotherapy Based on Biomarker Examination May Improve Survival of Patients Completely Resected for Non-small-cell Lung Cancer / D. Liu [et.al.] // Anticancer research.- 2017.- Vol. 37, № 5. - P. 2501-2507.

67. MDR1 C2005T polymorphism changes substrate specificity / L. Liu [et.al.] // Cancer chemotherapy and pharmacology.- 2010.- Vol. 66, № 3. - P. 617-623.

68. Liu X.Y. Recent advances in cancer research and therapy /Liu X. Y., Pestka S., Shi Y. F. // Elsevier, 2012.

69. Lockhart A. C. Pharmacogenetics of ATP-binding Cassette Transporters in Cancer and Chemotherapy1 / A. C. Lockhart, R. G. Tirona, R. B. Kim // Molecular Cancer Therapeutics.- 2003.- Vol. 2, № 7. - P. 685-698.

70. Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance / C. Marzolini [et.al.] // Clinical Pharmacology & Therapeutics.- 2004.- Vol. 75, № 1. - P. 13-33.

71. Matsuo M. ATP-binding cassette proteins involved in glucose and lipid homeostasis // Bioscience, biotechnology, and biochemistry.- 2010.- Vol. - P. 1003271908-1003271908.

72. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016 / K. D. Miller [et.al.] // CA Cancer J Clin.- 2016.- Vol. 66, № 4. - P. 271-289.

73. Mo W. Biochemistry and pharmacology of human ABCC1/MRP1 and its role in detoxification and in multidrug resistance of cancer chemotherapy / W. Mo [et.al.] // Recent advances in cancer research and therapy. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.- 2012.- Vol. - P. 371-404.

74. Role of the MRP1/ABCC1 multidrug transporter protein in cancer / M. Munoz [et.al.] // IUBMB life.- 2007.- Vol. 59, № 12. - P. 752.

75. 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 [et.al.] // Molecular Cancer Therapeutics.- 2006.- Vol. 5, № 7. - P. 1800-1806.

76. S-1 vs. paclitaxel plus carboplatin as adjuvant chemotherapy for completely resected stage II/IIIA non-small-cell lung cancer / K. Okuda [et.al.] // Molecular and clinical oncology.- 2018.- Vol. 8, № 1. - P. 73-79.

77. DNA repair by ERCC1 in non–small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy / K. A. Olaussen [et.al.] // New England Journal of Medicine.- 2006.- Vol. 355, № 10. - P. 983-991.

78. The prevalence of human papillomavirus infection in Korean non-small cell lung cancer patients / M. S. Park [et.al.] // Yonsei medical journal.- 2007.- Vol. 48, № 1. - P. 69-77.

79. Pfaffl M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR // Nucleic acids research.- 2001.- Vol. 29, № 9.

80. Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group / J. P. Pignon [et.al.] // Journal of Clinical Oncology.- 2008.- Vol. 26, № 21.

81. Pathologic complete response in advanced non-small-cell lung cancer following preoperative chemotherapy: implications for the design of future non-small-cell lung cancer combined modality trials / K. Pisters [et.al.] // Journal of Clinical Oncology.- 1993.- Vol. 11, № 9. - P. 1757-1762.

82. 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. Pisters [et.al.] // Journal of Clinical Oncology.- 2010.- Vol. 28, № 11. - P. 1843-1849.

83. Monoclonal antibodies against P-glycoprotein, an MDR1 gene product, inhibit interleukin-2 release from PHA-activated lymphocytes / G. Raghu [et.al.] // Experimental hematology.- 1996.- Vol. 24, № 10. - P. 1258-1264.

84. A physiologic function for p-glycoprotein (MDR-1) during the migration of dendritic cells from skin via afferent lymphatic vessels / G. J. Randolph [et.al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences.- 1998.- Vol. 95, № 12. - P. 6924-6929.

85. Overexpression of the ATP-binding cassette half-transporter, ABCG2 (Mxr/BCrp/ABCP1), in flavopiridol-resistant human breast cancer cells / R. W. Robey [et.al.] // Clinical Cancer Research.- 2001.- Vol. 7, № 1. - P. 145-152.

86. Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer / R. W. Robey [et.al.] // Nature Reviews Cancer.- 2018.- Vol. 18, № 7. - P. 452.

87. The product of the ABC half-transporter gene ABCG2 (BCRP/MXR/ABCP) is expressed in the plasma membrane //Biochemical and biophysical research communications / E. Rocchi [et.al.] // Biochemical and biophysical research communications.- 2000.- Vol. 271, № 1. - P. 42-46.

88. Increased levels of the multidrug resistance protein in lateral membranes of proliferating hepatocyte-derived cells / H. Roelofsen [et.al.] // Gastroenterology.- 1997.- Vol. 112, № 2. - P. 511-521.

89. A randomized trial comparing preoperative chemotherapy plus surgery with surgery alone in patients with non-small-cell lung cancer / R. Rosell [et.al.] // New England Journal of Medicine.- 1994.- Vol. 330, № 3. - P. 153-158.

90. A randomized trial comparing perioperative chemotherapy and surgery with surgery alone in resectable stage IIIA non-small-cell lung cancer / J. A. Roth [et.al.] // JNCI: Journal of the National Cancer Institute.- 1994.- Vol. 86, № 9. - P. 673-680.

91. Expression of MRP1, LRP and Pgp in breast carcinoma patients treated with preoperative chemotherapy / M. Rudas [et.al.] // Breast cancer research and treatment.- 2003.- Vol. 81, № 2. - P. 149-157.

92. Expression of multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) in normal human tissues and carcinomas using tissue microarrays / G. Sandusky [et.al.] // Histopathology.- 2002.- Vol. 41, № 1. - P. 65-74.

93. Multidrug-resistant gene expression in small-cell lung cancer / N. Savaraj [et.al.] // American journal of clinical oncology.- 1997.- Vol. 20, № 4. - P. 398-403.

94. Randomized phase III study of surgery alone or surgery plus preoperative cisplatin and gemcitabine in stages IB to IIIA non–small-cell lung cancer / G. V. Scagliotti [et.al.] // Journal of Clinical Oncology.- 2011.- Vol. 30, № 2. - P. 172-178.

95. . Multidrug resistance related molecules in human and murine lung / G. Scheffer [et.al.] // Journal of clinical pathology.- 2002.- Vol. 55, № 5. - P. 332-339.

96. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non–small-cell lung cancer / J. H. Schiller [et.al.] // New England Journal of Medicine.- 2002.- Vol. 346, № 2. - P. 92-98.

97. Downregulation of ABCA1 and ABCG1 transporters by simvastatin in cholangiocarcinoma cells / P. Seeree [et.al.] // Oncology Letters.- 2019.- Vol. 18, № 5. - P. 5173-5184.

98. Sekido Y. Molecular biology of lung cancer / Y. Sekido, K. M. Fong, J. Minna // 2005.- Vol. - 54. – №. 1. – P. 73-87

99. Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transporter gene ABCB1 / A. Siddiqui [et.al.] // New England Journal of Medicine.- 2003.- Vol. 348, № 15. - P. 1442-1448.

100.Pharmacogenetics of membrane transporters: an update on current approaches / T. M. Sissung [et.al.] // Molecular biotechnology.- 2010.- Vol. 44, № 2. - P. 152-167.

101.Pharmacogenomics of ABC transporters and its role in cancer chemotherapy / A. Sparreboom [et.al.] // Drug Resistance Updates.- 2003.- Vol. 6, № 2. - P. 71-84.

102.Chemosensitivity and survival of non-small cell lung carcinoma patients receiving neoadjuvant therapy depend on the expression of multidrug efflux transporters / T. Stankovic [et.al.] // Journal of Molecular and Clinical Medicine.- 2019.- Vol. 2, № 4. - P. 129-135.

103.cDNA cloning of a short type of multidrug resistance protein homologue, SMRP, from a human lung cancer cell line / T. Suzuki [et.al.] // Biochemical and biophysical research communications.- 1997.- Vol. 238, № 3. - P. 790-794.

104.The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME–Tox) / G. Szakacs [et.al.] // Drug discovery today.- 2008.- Vol. 13, № 9. - P. 379-393.

105.Multidrug resistance mediated by MDR-ABC transporters / G. Szakács [et.al.] // Drug Resistance in Cancer Cells.- 2009.- Vol. - P. 1-20.

106.Multidrug-resistant genotype (ABCB1) and seizure recurrence in newly treated epilepsy: Data from international pharmacogenetic cohorts / C. Szoeke [et.al.] // Epilepsia.- 2009.- Vol. 50, № 7. - P. 1689-1696.

107.Tarling E. J. Expanding roles of ABCG1 and sterol transport // Current opinion in lipidology.- 2013.- Vol. 24, № 2. - P. 138-146.

108.ABCG1 and HDL protect against endothelial dysfunction in mice fed a high-cholesterol diet / N. Terasaka [et.al.] // The Journal of clinical investigation.- 2008.- Vol. 118, № 11. - P. 3701-3713.

109.F. Thiebaut, T. Tsuruo, H. Hamada, M. M. Gottesman, I. Pastan, M. C. Willingham. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues / F. Thiebaut, T. Tsuruo, H. Hamada, M. M. Gottesman, I. Pastan, M. C. Willingham // Proceedings of the National Academy of Sciences.- 1987.- Vol. 84, № 21. - P. 7735-7738.

110.ABCG1 as a potential oncogene in lung cancer / C. Tian [et.al.] // Experimental and therapeutic medicine.- 2017.- Vol. 13, № 6. - P. 3189-3194.

111.Multidrug resistance in small cell lung cancer: expression of P-glycoprotein, multidrug resistance protein 1 and lung resistance protein in chemo-naive patients and in relapsed disease / N. Triller [et.al.] // Lung Cancer.- 2006.- Vol. 54, № 2. - P. 235-240.

112.Membrane topology of human ABC proteins / G. E. Tusnády [et.al.] // FEBS letters.- 2006.- Vol. 580, № 4. - P. 1017-1022.

113.van Meerten E. L. P. RECIST revised: implications for the radiologist. A review article on the modified RECIST guideline / E. L. v. P. van Meerten, H. Gelderblom, J. L. Bloem // European radiology.- 2010.- Vol. 20, № 6. - P. 1456-1467.

114.Detection of human papillomaviruses type 16, 18 and 33 in bronchial aspirates of lung carcinoma patients by polymerase chain reaction: a study of 84 cases in Croatia / B. Vrabec Branica [et.al.] // Collegium antropologicum.- 2010.- Vol. 34, № 1. - P. 159-162.

115.Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold / J. E. Walker [et.al.] // The EMBO journal.- 1982.- Vol. 1, № 8. - P. 945.

116.Wang D. Cellular processing of platinum anticancer drugs / D. Wang, S. J. Lippard // Nature reviews Drug discovery.- 2005.- Vol. 4, № 4. - P. 307.

117.Multidrug resistance gene G1199A polymorphism alters efflux transport activity of P-glycoprotein / E. L. Woodahl [et.al.] // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.- 2004.- Vol. 310, № 3. - P. 1199-1207.

118.Frequent p16INK4a promoter hypermethylation in human papillomavirus-infected female lung cancer in Taiwan / M. F. Wu [et.al.] // International Journal of Cancer.- 2005.- Vol. 113, № 3. - P. 440-445.

119.Low prevalence of human papillomavirus in head and neck squamous cell carcinoma in Chinese patients / Y. Xu [et.al.] // Journal of medical virology.- 2015.- Vol. 87, № 2. - P. 281-286.

120.Germline genetic variants in ABCB1, ABCC1 and ALDH1A1, and risk of hematological and gastrointestinal toxicities in a SWOG Phase III trial S0221 for breast cancer / S. Yao [et.al.] // The pharmacogenomics journal.- 2014.- Vol. 14, № 3. - P. 241-247.

121.Characterization and analyses of multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1/ABCC1) polymorphisms in Chinese population / J. Y. Yin [et.al.] // Pharmacogenetics and Genomics.- 2009.- Vol. 19, № 3. - P. 206.

122.Breast cancer resistance protein impacts clinical outcome in platinum-based chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer / K. Yoh [et.al.] // Clinical Cancer Research.- 2004.- Vol. 10, № 5. - P. 1691-1697.

123.Multidrug Resistance Proteins MRP3, MRP1, and MRP2 in Lung Cancer Correlation of Protein Levels with Drug Response and Messenger RNA Levels / L. C. Young [et.al.] // Clinical Cancer Research.- 2001.- Vol. 7, № 6. - P. 1798-1804.

124.Zheng Y. Neoadjuvant Therapy in Non–Small Cell Lung Cancer / Y. Zheng, M. T. Jaklitsch, R. Bueno // Surgical Oncology Clinics.- 2016.- Vol. 25, № 3. - P. 567-584.

125.Increased expression of the Abcg2 transporter during erythroid maturation plays a role in decreasing cellular protoporphyrin IX levels / S. Zhou [et.al.] // Blood.- 2005.- Vol. 105, № 6. - P. 2571-2576.

126.Prognostic significance of ABCB1 in stage I lung adenocarcinoma / F. Zou [et.al.] // Oncology Letters.- 2017.- Vol. 14, № 1. - P. 313-321.

127.Арсеньев А. адъювантная химиотерапия и лучевая терапия операбельного немелкоклеточного рака лёгкого // Практическая онкология.- 2006.- Vol. 7, № 3-2006.

128.Багрова С. Г. Сравнительная оценка различных платиносодержащих режимов химиотерапии в лечении распространенного мелкоклеточного рака легкого (опыт отделения химиотерапии РОНЦ им. НН Блохина РАМН) / С. Г. Багрова [и др.]// Российский онкологический журнал.- 2013.- Vol. 2.

129.Гемцитабин в комбинации с цисплатином в неоадьювантной химиотерапии немелкоклеточного рака легкого / М. Давыдов [и др.] // Сборник X11 Российского онкологического конгресса. М.- 2008.- Vol. - P. 88-93.

130.Душкин М. Макрофаги и атеросклероз: патофизиологические и терапевтические аспекты // Сибирский научный медицинский журнал.- 2006.- Vol. 2. -

131.Каприн А. Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность) / А. Каприн, В. Старинский, Г. Петрова // М.: МНИОИ им. ПА Герцена.- 2015.- Vol. 250.

132.Хирургическое лечение больных периферическим немелкоклеточным раком легкого I стадии: результаты, прогноз, перспективы / К. Колбанов [и др.] // Онкология. Журнал им. ПА Герцена.- 2016.- Vol. 5, № 5. - P. 4-10.

133.Литвяков Н. В. Градиентный феномен экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли молочной железы при проведении неоадъювантной химиотерапии: связь с прогрессированием заболевания // Сибирский онкологический журнал.- 2013.- Vol. 4. - P. 58.

134.Неоадъювантная химиотерапия в комбинированном лечении немелкоклеточного рака легкого / С. В. Миллер [и др.] // СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ.- 2015.- Vol. Приложение 2.

135.Особенности экспрессии гена транспортера ABCG1 в мононуклеарных клетках периферической крови у пациентов с атеросклерозом / В. Мирошникова [и др.] // Цитология.- 2014.- Vol. 56, № 3.

136.Переводчикова Н. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. / Н. Переводчикова, В. Горбунова // М.: Практическая медицина.- 2013.- Vol. - P. 156-161.

137.Уровень экспрессии генов лекарственной устойчивости в опухоли больных раком яичников после неоадъювантной химиотерапии / Л. В. Полуднякова [и др.] // Ульяновский медико-биологический журнал.- 2019.- Vol. 4. -

138.Трахтенберг А. Х. Рак легкого / А. Х. Трахтенберг, К. И. Колбанов // Атмосфера. Пульмонология и аллергология.- 2008.- Vol. 4, № - P. 3-9.

139.Тюляндин С. Минимальные клинические рекомендации Европейского общества медицинской онкологии (ESMO) / С. Тюляндин, Д. Носов, Н. Переводчикова // М.: РОНЦ им. НН Блохина РАМН.- 2010.- Vol. -

140.Фоменко А. В. Способ лечения онкологических заболеваний // Электронный периодический рецензируемый научный журнал «SCI-ARTICLE. RU».- 2018.- Vol. - P. 152.

141.Цыганов М.М. Обоснование использования экспрессионных маркёров для персонализации химиотерапии рака лёгкого / М.М. Цыганов [и др.] // Антибиотики и химиотерапия.- 2015.- Vol. 60, № - P. 9-10.

142.Оценка прогностической значимости изменения экспрессии генов ABC-транспортеров в процессе неоадъювантной химиотерапии у больных немелкоклеточном раке легкого / М. М. Цыганов [и др.] // Медицинская генетика.- 2016.- Vol. 15, № 5. - P. 52-55.

143.Черных А. Современные варианты лечения немелкоклеточного рака легкого // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 11. Медицина.- 2009.- Vol. 2.

144.Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению хронической обструктивной болезни легких / А. Чучалин [и др.] // Пульмонология.- 2014.- Vol. 3, № - P. 15-54.

145.Факторы химиорезистентности при немелкоклеточном раке лёгкого / А. Шевченко [и др.] // Патологія.- 2016.- Vol. 1. - P. 4-9.

(/index.php/ru/) (/index.php/en/)

(/index.php)

Поиск заимствований в научных текстах$^{\beta}$

Введите текст:

...или загрузите файл:

Файл не выбран... **Выбрать файл...**

Укажите год публикации: 2020

Выберите коллекции

- Все
- Рефераты
- Авторефераты
- Иностранные конференции
- PubMed
- Википедия
- Российские конференции
- Иностранные журналы
- Российские журналы
- Энциклопедии
- Англоязычная википедия

Анализировать

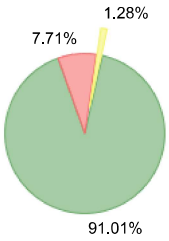
Проверить по расширенному списку коллекций системы Руконтекст (http://text.rucont.ru/like)

Год публикации: 2020.

Оценка оригинальности документа - 91.0%

Процент условно корректных заимствований - 1.28%

Процент некорректных заимствований - 7.71%



Просмотр заимствований в документе

Время выполнения: 14 с.

Документы из базы

Источники заимствования	В списке литературы	Источники Заимствования
1. Комбинированное лечение местно-распространенного немелкоклеточного рака легкого и экспрессия генов химиорезистентности (http://vak2.ed.gov.ru/idcUploadAutoref/renderFile/174736) Авторы: Юмов Евгений Леонидович. Год публикации: 2014. Тип публикации: автореферат диссертации. http://vak2.ed.gov.ru/idcUploadAutoref/renderFile/174736 (http://vak2.ed.gov.ru/idcUploadAutoref/renderFile/174736) Показать заимствования (15)	—	3.11%

2. Регуляция экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли молочной железы при проведении неоадьювантной химиотерапии (http://vak2.ed.gov.ru/idcUploadAutoref/renderFile/171778) — 2.64%

Авторы: Литвяков Николай Васильевич.
Год публикации: 2014. Тип публикации: автореферат диссертации.
http://vak2.ed.gov.ru/idcUploadAutoref/renderFile/171778
(http://vak2.ed.gov.ru/idcUploadAutoref/renderFile/171778)
Показать заимствования (13)

3. Экспрессия генов множественной лекарственной устойчивости и монорезистентности при немелкоклеточном раке легкого (http://cyberleninka.ru/article/n/ekspressiya-genov-mnozhestvennoy-lekarstvennoy-ustoychivosti-i-monorezistentnosti-pri-nemelkokletochnom-rake-legkogo) — 2.34%

Авторы: Юмов Е. Л., Цыганов М. М., Литвяков Николай Васильевич.
Год публикации: 2014. Тип публикации: статья научного журнала.
http://cyberleninka.ru/article/n/ekspressiya-genov-mnozhestvennoy-lekarstvennoy-ustoychivosti-i-monorezistentnosti-pri-nemelkokletochnom-rake-legkogo
(http://cyberleninka.ru/article/n/ekspressiya-genov-mnozhestvennoy-lekarstvennoy-ustoychivosti-i-monorezistentnosti-pri-nemelkokletochnom-rake-legkogo)
Показать заимствования (12)

4. Градиентный феномен экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли молочной железы при проведении неоадъювантной химиотерапии: связь с прогрессированием заболевания (http://cyberleninka.ru/article/n/gradientnyy-fenomen-ekspressii-genov-mnozhestvennoy-lekarstvennoy-ustoychivosti-v-opuholi-molochnoy-zhelezy-pri-provedenii) — 1.76%

Авторы: Литвяков Николай Васильевич.
Год публикации: 2013. Тип публикации: статья научного журнала.
http://cyberleninka.ru/article/n/gradientnyy-fenomen-ekspressii-genov-mnozhestvennoy-lekarstvennoy-ustoychivosti-v-opuholi-molochnoy-zhelezy-pri-provedenii
(http://cyberleninka.ru/article/n/gradientnyy-fenomen-ekspressii-genov-mnozhestvennoy-lekarstvennoy-ustoychivosti-v-opuholi-molochnoy-zhelezy-pri-provedenii)
Показать заимствования (10)

5. Современные варианты лечения немелкоклеточного рака легкого (http://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-varianty-lecheniya-nemelkokletochnogo-raka-legkogo) — 1.28%

Авторы: Черных А. В..
Год публикации: 2009. Тип публикации: статья научного журнала.
http://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-varianty-lecheniya-nemelkokletochnogo-raka-legkogo
(http://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-varianty-lecheniya-nemelkokletochnogo-raka-legkogo)
Показать заимствования (7)

6. Микроматричный анализ аномалий числа копий ДНК опухоли молочной железы: : связь с эффектом неоадъювантной химиотерапии (http://cyberleninka.ru/article/n/mikromatrichnyy-analiz-anomaliy-chisla-kopiy-dnk-opuholi-molochnoy-zhelezy-svyaz-s-effektom-neoadyuvantnoy-himioterapii) — 1.08%

Авторы: Литвяков Николай Васильевич, Цыганов М. М., Чердынцева Надежда Викторовна.
Год публикации: 2014. Тип публикации: статья научного журнала.
http://cyberleninka.ru/article/n/mikromatrichnyy-analiz-anomaliy-chisla-kopiy-dnk-opuholi-molochnoy-zhelezy-svyaz-s-effektom-neoadyuvantnoy-himioterapii
(http://cyberleninka.ru/article/n/mikromatrichnyy-analiz-anomaliy-chisla-kopiy-dnk-opuholi-molochnoy-zhelezy-svyaz-s-effektom-neoadyuvantnoy-himioterapii)
Показать заимствования (4)

7. Экспрессия генов множественной лекарственной устойчивости и монорезистентности при немелкоклеточном раке легкого (http://cyberleninka.ru/article/n/ekspressiya-genov-mnozhestvennoy-lekarstvennoy-ustoychivosti-i-monorezistentnosti-pri-nemelkokletochnom-rake-legkogo-1) — 0.98%

Авторы: ЮМОВ Е.Л., ЛИТВЯКОВ Н.В., МИЛЛЕР С.В..
Год публикации: 2014. Тип публикации: статья научного журнала.
http://cyberleninka.ru/article/n/ekspressiya-genov-mnozhestvennoy-lekarstvennoy-ustoychivosti-i-monorezistentnosti-pri-nemelkokletochnom-rake-legkogo-1
(http://cyberleninka.ru/article/n/ekspressiya-genov-mnozhestvennoy-lekarstvennoy-ustoychivosti-i-monorezistentnosti-pri-nemelkokletochnom-rake-legkogo-1)
Показать заимствования (4)

8. Современное состояние проблемы неоадьювантной химиотерапии немелкоклеточного рака легкого (нмрл) (http://cyberleninka.ru/article/n/sovremennoe-sostoyanie-problemy-neoadyuvantnoy-himioterapii-nemelkokletochnogo-raka-legkogo-nmrl)

Авторы: ЛАЗУТИН ЮРИЙ НИКОЛАЕВИ, ПЫЛЬЦИН СЕРГЕЙ ПЕТРОВИЧ, ХАРИТОНОВА АННА ПАВЛОВНА.
Год публикации: 2014. Тип публикации: статья научного журнала.
http://cyberleninka.ru/article/n/sovremennoe-sostoyanie-problemy-neoadyuvantnoy-himioterapii-nemelkokletochnogo-raka-legkogo-nmrl (http://cyberleninka.ru/article/n/sovremennoe-sostoyanie-problemy-neoadyuvantnoy-himioterapii-nemelkokletochnogo-raka-legkogo-nmrl)
Показать заимствования (5)

0.94%

9. Стандарты лечения немелкоклеточного рака легкого (http://cyberleninka.ru/article/n/standarty-lecheniya-nemelkokletochnogo-raka-legkogo)

Авторы: Барчук А. С..
Год публикации: 2003. Тип публикации: статья научного журнала.
http://cyberleninka.ru/article/n/standarty-lecheniya-nemelkokletochnogo-raka-legkogo (http://cyberleninka.ru/article/n/standarty-lecheniya-nemelkokletochnogo-raka-legkogo)
Показать заимствования (4)

0.92%

10. Химиотерапия рака легкого (http://www.rmj.ru/articles/pulmonologiya/Himioterapiya_raka_legkogo/?print_page=Y)

Авторы: Горбунова В.А..
Год публикации: 2001. Тип публикации: статья научного журнала.
http://www.rmj.ru/articles/pulmonologiya/Himioterapiya_raka_legkogo/?print_page=Y (http://www.rmj.ru/articles/pulmonologiya/Himioterapiya_raka_legkogo/?print_page=Y)
Показать заимствования (5)

0.84%

11. Постеры (http://cyberleninka.ru/article/n/postery-1)

Год публикации: 2014. Тип публикации: статья научного журнала.
http://cyberleninka.ru/article/n/postery-1 (http://cyberleninka.ru/article/n/postery-1)
Показать заимствования (5)

0.81%

12. Хирургическое лечение больных немелкоклеточным раком легкого III стадии (http://cyberleninka.ru/article/n/hirurgicheskoe-lechenie-bolnyh-nemelkokletochnym-rakom-legkogo-iii-stadii)

Авторы: Полоцкий Б. Е., Давыдов М. И., Стилиди И. С..
Год публикации: 2004. Тип публикации: статья научного журнала.
http://cyberleninka.ru/article/n/hirurgicheskoe-lechenie-bolnyh-nemelkokletochnym-rakom-legkogo-iii-stadii (http://cyberleninka.ru/article/n/hirurgicheskoe-lechenie-bolnyh-nemelkokletochnym-rakom-legkogo-iii-stadii)
Показать заимствования (5)

0.74%

13. Современные взгляды на хирургическое лечение больных немелкоклеточным раком легкого III стадии (http://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-vzglyady-na-hirurgicheskoe-lechenie-bolnyh-nemelkokletochnym-rakom-legkogo-iii-stadii)

Авторы: Полоцкий Б. Е., Давыдов М. И., Стилиди И. С..
Год публикации: 2003. Тип публикации: статья научного журнала.
http://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-vzglyady-na-hirurgicheskoe-lechenie-bolnyh-nemelkokletochnym-rakom-legkogo-iii-stadii (http://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-vzglyady-na-hirurgicheskoe-lechenie-bolnyh-nemelkokletochnym-rakom-legkogo-iii-stadii)
Показать заимствования (5)

0.74%

14. Химиотерапия в комбинированном лечении местнораспространенного немелкоклеточного рака легкого (http://cyberleninka.ru/article/n/himioterapiya-v-kombinirovannom-lechenii-mestnorasprostranennogo-nemelkokletochnogo-raka-legkogo)

Авторы: Юмов Евгений Леонидович, Миллер Сергей Викторович, Литвяков Николай Васильевич.
Год публикации: 2014. Тип публикации: статья научного журнала.
http://cyberleninka.ru/article/n/himioterapiya-v-kombinirovannom-lechenii-mestnorasprostranennogo-nemelkokletochnogo-raka-legkogo (http://cyberleninka.ru/article/n/himioterapiya-v-kombinirovannom-lechenii-mestnorasprostranennogo-nemelkokletochnogo-raka-legkogo)
Показать заимствования (4)

0.67%

Дополнительно

Значимые оригинальные фрагменты

Библиографические ссылки

Искать в Интернете

© 2015 2020 Институт системного анализа Российской академии наук (http://www.isa.ru/index.php?lang=ru)