

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«РЕСПУБЛИКАНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ И
МЕДИЦИНСКОЙ РАДИОЛОГИИ им. Н.Н. АЛЕКСАНДРОВА»

УДК 616.24-006.6:615.28:615.849.2:578(476)

МАТУСЕВИЧ
Виктор Александрович

**ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ
ЛЕГКОГО I-II СТАДИИ**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 14.01.12 – онкология

Минск, 2016

Научная работа выполнена в Государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

Научный руководитель: Смолякова Раиса Михайловна, доктор биологических наук, доцент, заведующая Республиканской молекулярно-генетической лабораторией канцерогенеза Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

Официальные оппоненты: Мельнов Сергей Борисович, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры экологической и молекулярной генетики Учреждения образования «Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова» Белорусского государственного университета

Михаленко Елена Петровна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории криоконсервации генетических ресурсов Государственного научного учреждения «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

Оппонирующая организация: Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Защита состоится «01» июня 2016 г. в 14 ч 30 мин на заседании совета по защите диссертаций Д 03.12.01 при Государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» (223040, Минский р-н, агр. Лесной, E-mail: NArtemova@omr.med.by, тел. +375173899561).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова».

Автореферат разослан «____» апреля 2016 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций
доктор медицинских наук, доцент

Н.А. Артемова

ВВЕДЕНИЕ

Рак легкого (РЛ) в структуре онкологической смертности находится на высоком уровне как у мужчин, так и у женщин в большинстве развитых стран мира. Ежегодно выявляется около 1,2 миллиона новых случаев и регистрируется более 1 миллиона смертей от данного заболевания.

В структуре онкологической заболеваемости на рак легкого приходится 12,8%. Показатели 5-летней выживаемости при раке легкого даже в странах с самым высоким стандартом здравоохранения составляют не более 15%, а при среднем уровне развития медицины эта цифра едва достигает 5–7%. В разных географических регионах среди мужчин ежегодно регистрируется от 5,3 до 99,7 новых случаев рака легкого на 100000 человек в год, заболеваемость женщин в 6–10 раз ниже. В России ежегодно от рака легкого погибает свыше 60000 человек, что составляет более 20% всех умерших от злокачественных опухолей. В общей структуре смертности от злокачественных новообразований в Беларуси рак легкого занимает наибольший по частоте удельный вес – 18,3%, а уровень одногодичной летальности в республике в 2013–2014 гг. составил 48,7%. Основной причиной смерти является прогрессирование опухолевого процесса. К моменту установления диагноза более 75% пациентов имеют неоперабельный местно-распространенный или метастатический процесс. Пациенты с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) при III и IV стадиях болезни подлежат лекарственному лечению.

Развитие злокачественной опухоли – многофакторный и многостадийный процесс, в основе которого лежит накопление клетками различных генетических изменений, приводящих к злокачественной трансформации. Малигнизация нормальных клеток является следствием каскадного накопления в их геноме различных нарушений. Предполагается, что для развития рака у человека необходимы изменения не менее 6-10 генетических факторов.

До настоящего времени практически ни один молекулярный маркер рака легкого не используется в клинической практике для выделения групп пациентов с неблагоприятным прогнозом. Одной из причин является то, что большинство работ по прогнозированию течения рака легкого посвящены анализу связи между выявлением отдельных молекулярных и/или генетических факторов (их положительное или отрицательное влияние) и опухолевой прогрессией. В настоящее время усилия молекулярных биологов и клиницистов направлены на создание алгоритмов маркерных «кластеров», дающих более полную и достоверную информацию о прогрессировании опухолевого процесса. Основной задачей данных работ является как можно более полное освещение различных характеристик и маркеров опухоли. Такой подход поможет клиницисту выработать адекватную тактику ведения конкретного пациента с НМРЛ, опираясь на знание биологических особенностей опухолевого процесса. Кроме того,

основным вопросом при проведении химиотерапии остается чувствительность опухолевых клеток. Многие исследования проводятся в рамках определения целесообразности использования химиотерапии, при этом не учитывается индивидуальный биологический профиль опухоли. К сожалению, на сегодняшний день практически ни одна математическая модель не учитывает химиочувствительность злокачественного новообразования у конкретного пациента, существующие математические модели прогнозирования течения заболевания носят групповой характер и имеют низкую прогностическую значимость.

Учитывая то обстоятельство, что более половины пациентов с НМРЛ неоперабельны в момент установления диагноза в связи с местнораспространенным процессом, либо в связи с наличием отдаленных метастазов, очевидна актуальность разработки методов ранней и комплексной диагностики, равно как и внедрение в практику методов комбинированного лечения уже на ранних стадиях заболевания.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Диссертационная работа выполнялась в рамках государственной научно-технической программы «Новые технологии диагностики и лечения» подпрограммы «Онкология», задание 03.01 «Разработать и внедрить в клиническую практику методы комбинированного лечения пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого I-IIВ стадии, с использованием адъювантной химиолучевой терапии и разработать показания для его применения на основе оценки комплекса биологических опухолевых маркеров» (№ государственной регистрации 2008092, сроки выполнения 2008-2012 гг.), в рамках международного проекта при поддержке Белорусского фонда фундаментальных исследований «Роль экспрессии белка ERCC1 в определении прогноза и эффективности химиотерапии у радикально оперированных пациентов немелкоклеточным и мелкоклеточным раком легкого» по договору № М 13 ЛИТ-012 от 01.04.2013 г. (№ государственной регистрации 20131591, сроки выполнения 2013-2014 гг.).

Диссертационная работа соответствует приоритетному направлению фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2011-2015 годы, отраженному в пункте 4.2 «Новые технологии профилактики, диагностики, лечения и реабилитации сердечно-сосудистых, онкологических и других социально значимых заболеваний» (постановления Совета Министров Республики Беларусь «Об утверждении перечня приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь» от 19 апреля 2010 года № 585).

Цель и задачи исследования

Цель исследования – повысить эффективность прогнозирования течения заболевания у пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого I-II стадии, на основе разработки математической модели с учетом молекулярно-генетических особенностей опухоли для индивидуализации тактики лечения данной категории пациентов.

Достижение поставленной цели предусматривало решение следующих **задач**:

1. Определить частоту выявления микросателлитной нестабильности и молекулярных нарушений в генах GSTT1, GSTM1, K-ras, p16INK4A, ERCC1, Her-2/neu и полисомии 17 хромосомы, с-тус, а также уровень экспрессии тканевых антигенов Ki-67, p53, Вах, Bcl-2, PCNA, EGFR, VEGF у пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого I-II стадии.
2. Изучить взаимосвязь исследуемых молекулярно-биологических маркеров с показателями бессобытийной выживаемости пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого I-II стадии, для стратификации на группы высокого и низкого риска развития неблагоприятного прогноза заболевания.
3. Установить возможность использования исследуемых молекулярно-биологических маркеров для оценки эффективности адъювантной химиотерапии у пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого I-II стадии.
4. Провести многофакторный анализ клинических и молекулярно-генетических показателей и на его основе разработать математическую модель индивидуального прогнозирования течения заболевания.

Научная новизна

Впервые выполнена комплексная оценка молекулярно-биологических факторов и определена их значимость в индивидуальном прогнозировании течения немелкоклеточного рака легкого I-II стадии. Проведен анализ чувствительности опухолевых клеток в ответ на проведение адъювантной химиотерапии по схеме цисплатин, навельбин и установлены уровни значимых молекулярных маркеров: апоптотического белка p53 (2 балла), ядерного белка Ki-67 (20%), которые являются пороговыми при стратификации пациентов на группы высокого и низкого риска прогрессирования заболевания.

Получены новые данные по экспрессии гена ERCC1, с определением порогового значения, равного 160 относительным единицам, позволяющим оценить резистентность опухоли к адъювантной химиотерапии. Установлен высокий уровень корреляции белков Ki-67 и p53 ($r=0,52$, $p<0,05$), что не позволяет их рассматривать как независимые прогностические факторы. Впервые разработана математическая модель прогнозирования течения заболевания,

включающая поражение регионарных лимфоузлов, статус курения, а также уровень экспрессии белка p53, позволяющая стратифицировать пациентов на группы высокого и низкого риска развития неблагоприятного прогноза.

Положения, выносимые на защиту

1. Молекулярная гетерогенность немелкоклеточного рака легкого I-II стадии может быть обусловлена нарушениями регуляторных генетических механизмов, приводящими к функциональной несостоятельности генов системы детоксикации (GSTT1, GSTM1), нарушениям в генах-регуляторах процессов пролиферации (Ki-67, PCNA), в протоонкогенах и генах-супрессорах (K-ras, p16INK4A), амплификацией генов (c-myc, Her-2/neu), нарушениям механизмов апоптоза (Bcl-2, Bax, p53) и репарации ДНК (ген ERCC1, микросателлитная нестабильность), хромосомным абберациям (полисомия 17 хромосомы) с изменением экспрессии факторов роста (EGFR, VEGF).

2. Уровень экспрессии белка p53, равный 2 баллам, и уровень экспрессии белка Ki-67, равный 20%, являются пороговыми и позволяют делить пациентов на группы высокого и низкого риска прогрессирования заболевания. Низкий уровень экспрессии является более благоприятным прогностическим фактором, чем высокий.

3. Предиктивным маркером оценки резистентности опухоли к адьювантной химиотерапии по схеме цисплатин, навельбин у пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого I-II стадии, является уровень экспрессии гена ERCC1, равный 160 относительным единицам. Уровень экспрессии ERCC1 > 160 относительных единиц ассоциирован с большей устойчивостью опухоли к адьювантной химиотерапии по схеме цисплатин, навельбин ($p < 0,05$), чем уровень экспрессии ERCC1 ≤ 160 относительных единиц.

4. Независимыми прогностическими факторами, определяющими прогноз течения немелкоклеточного рака легкого I-II стадии, включенными в математическую модель, являются: уровень экспрессии белка p53 ($p = 0,020$), поражение регионарных лимфатических узлов ($p = 0,019$) и статус курения ($p = 0,033$).

Личный вклад соискателя ученой степени

Лично автором выполнен обзор литературы по теме диссертации, проведены молекулярно-генетические исследования по оценке микросателлитной нестабильности, экспрессии и поиску полиморфизмов в генах GSTT1, GSTM1, K-ras, p16INK4A, ERCC1. С использованием иммуногистохимического анализа выполнено определение экспрессии белков EGFR, VEGF, Ki-67, p53, Bax, Bcl-2, PCNA. Оценка уровней экспрессии тканевых антигенов осуществлялась совместно с врачом-патологоанатомом к.м.н. М.А. Возмитель. Выявление

амплификации генов *c-myc* и *Her-2/neu* проведено с применением метода флюоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) самостоятельно. Проанализированы клинические и молекулярно-генетические данные, проведена их статистическая обработка и изложение полученных результатов в виде диссертационной работы. Постановка проблемы, цели, задач и положений, выносимых на защиту, обоснование методологии научного исследования и интерпретация полученных результатов проведены совместно с научным руководителем д.б.н., доцентом Р.М. Смоляковой.

Работа сотрудников, принимавших участие в исследовании, отражена в совместных публикациях [1, 5, 8, 9, 11, 13, 14, 15, 18].

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Основные положения и результаты диссертационной работы доложены на научной конференции, посвященной Дню медицинской науки, секция «Онкология» (Минск, 2010–2011 гг.), Республиканской научно-практической конференции «Современные молекулярно-генетические методы диагностики в медицине» (Гомель, 2010 г.), международном конгрессе «Новые подходы в системе последиplomного обучения и подготовки специалистов» (Минск, 2011 г.), на «7-ом Центральном европейском региональном съезде» (Шиофок, Венгрия, 2012 г.). Разработана и внедрена инструкция по применению «Иммуногистохимические методы определения прогностических факторов при немелкоклеточном раке легкого I-III стадии» [18].

Опубликование результатов диссертации

По теме диссертации опубликовано 18 научных работ: 4 статьи в рецензируемых журналах, 13 тезисов докладов научных конференций, 1 инструкция по применению. Всего имеется 4 публикации (2,1 авторских листа) по теме диссертации, соответствующих пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, 3 глав с описанием собственных результатов, заключения, библиографического списка, занимающего 11 страниц и включающего 121 использованный источник и 18 собственных публикаций, 2 приложений. Работа изложена на 108 страницах, содержит 26 таблиц и 40 рисунков, занимающих 24 страницы.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал и методы клинического исследования. В основу работы положены данные исследования 147 пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого IA-III стадии, у которых исследовалась опухолевая ткань, кровь и

мокрота. Все пациенты получали специальное лечение в ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» в период с 2008 по 2012 гг.

Пациенты были разделены на 2 группы: в первой группе все пациенты подвергались только хирургическому лечению (77 пациентов, наблюдаемая группа), во второй – после выполненной операции проводилась адъювантная химиотерапия по схеме навельбин, цисплатин (70 пациентов, исследуемая группа).

Материалом настоящего исследования послужила кровь, опухолевая ткань легкого и мокрота 147 пациентов с НМРЛ I-II стадии.

Изучение экспрессии в опухолевой ткани антигенов EGFR, VEGF, Ki-67, p53, Вах, Bcl-2, PCNA осуществлялось иммуногистохимическим методом. Определение экспрессии гена ERCC1 в опухолевой ткани выполнялось методом Real-time PCR с применением амплификатора «7300 Real-time PCR system». Оценка полиморфизма генов GSTT1 и GSTM1 проводилась в крови, выявление мутации гена K-ras с рестрикцией эндонуклеазой в опухолевой ткани и мокроте выполнено с использованием метода ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле. Определение микросателлитной нестабильности осуществлялось методом фрагментного анализа на генетическом анализаторе ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems, США). Метилирование промотора гена p16INK4A выявлялось методом метил-специфичной ПЦР на амплификаторе «IQ5 Cyler» (BIO-RAD, США). Амплификация генов c-myc, Her-2/neu и полисомия 17 хромосомы оценивалась методом FISH с использованием флюоресцентного микроскопа компании «Zeiss» (Германия).

Молекулярно-генетические исследования проводились после радикального хирургического лечения до начала проведения химиотерапии. Эффективность проводимой адъювантной химиотерапии оценивали по показателям бессобытийной выживаемости. Событием считалось прогрессирование заболевания, либо смерть от НМРЛ.

Статистический анализ полученных результатов выполнен с использованием пакетов статистических программ SPSS (версия 20.0.0), Excel 2007 («Microsoft Office»). При всех видах статистического анализа различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. При выполнении работы применялись методы статистической обработки результатов, основанные на описательной статистике с определением формы распределения и применением критериев проверки статистических гипотез, оценке бессобытийной выживаемости. Для сравнения групп использовался Log-rank тест, а построение математической модели проводилось при помощи регрессионного анализа Кокса.

Результаты клинического исследования.

Оценка молекулярно-генетических маркеров у пациентов, страдающих НМРЛ. В крови 111 пациентов, страдающих НМРЛ, проведен анализ делеций

генов семейства глутатион-S-трансферазы. Делеции генов GSTT1 и GSTM1 выявлены у 27 (24,3%) и 50 (45,0%) пациентов, страдающих НМРЛ, соответственно. В 15 из 111 (13,5%) случаев делеции выявлены в обоих генах (рисунок 1).



Рисунок 1. – Распределение пациентов, страдающих НМРЛ, с делециями в генах семейства глутатион-S-трансферазы

Пациентам, страдающим НМРЛ, проведен анализ мутаций гена K-ras в 97 образцах. У 20 (20,6%) пациентов выявлен мутантный ген K-ras в первом и втором основании 12 кодона 1 экзона.

В результате проведенных исследований установлено, что статистически значимые различия ($p < 0,05$) в выживаемости имеются при уровне экспрессии маркера пролиферации Ki-67, равном 20%. В первую группу были включены пациенты, опухолевая ткань которых имела экспрессию маркера Ki-67 не более 20%, во вторую группу – с уровнем экспрессии Ki-67 более 20%. Уровень экспрессии пролиферативного маркера Ki-67 в опухолевой ткани не более 20% выявлен у 89 (61,4%) пациентов, у 56 (38,6%) пациентов экспрессия составила выше 20%. Высокой пролиферативной активностью ($>20\%$) обладала опухолевая ткань 56 (38,6%) пациентов, из которых у 21 (37,5%) отмечено прогрессирование заболевания либо летальный исход. Согласно полученным результатам корреляционного анализа по Спирмену, экспрессия маркера пролиферативной активности Ki-67 имела корреляционную связь со степенью дифференцировки опухоли ($r=0,25$; $p=0,0026$), стадией опухолевого процесса ($r=0,25$; $p=0,0023$), статусом курения ($r=0,20$; $p=0,0011$) и уровнем экспрессии p53 ($r=0,52$; $p=0,001$).

Определение статуса Her-2/neu выполнялось 54 пациентам. Отсутствие амплификации гена Her-2/neu выявлено у 52 (96,3%) пациентов и у 2 (3,7%) отмечено увеличение числа копий гена Her-2/neu. У обоих пациентов диагностировано прогрессирование заболевания.

При определении статуса Her-2/neu была отмечена высокая частота встречаемости полисомии хромосомы 17 (50,0% случаев). Однако не получено

значимых различий в выживаемости пациентов с полисомией 17 хромосомы и при ее отсутствии ($p=0,08$, Log-rank test).

Оценка экспрессии гена ERCC1 выполнялась в опухолевой ткани 128 пациентов. Согласно проведенному анализу полученных результатов, установлен относительный порог уровня экспрессии ERCC1, равный 160 относительным единицам, который является критическим значением при делении пациентов на группы с высоким и низким уровнем чувствительности опухоли к адьювантной химиотерапии.

У 74 из 128 (57,8%) пациентов установлен уровень экспрессии менее 160 относительных единиц, у 54 (42,2%) пациентов выявлен высокий уровень экспрессии ERCC1 (≥ 160 отн.ед.). Анализ полученных данных позволил определить статистически значимые различия ($p=0,046$, Log-rank test) в ответе на адьювантную химиотерапию в группах пациентов с низким и высоким уровнем экспрессии ERCC1 и показателями бессобытийной выживаемости. Опухолевые клетки пациентов с низким уровнем экспрессии ERCC1 (≤ 160 отн.ед.) являются более химиочувствительными и характеризуются высоким клиническим ответом на проведение химиотерапии ($p<0,05$). У пациентов с высоким уровнем экспрессии ERCC1 опухолевые клетки являются более устойчивыми к проведению адьювантной химиотерапии по схеме цисплатин, навельбин ($p=0,046$). Определение высоких значений уровня экспрессии ERCC1 (более 160 относительных единиц) может служить предиктивным маркером резистентности опухолевых клеток к химиотерапии, а также необходимости выработки индивидуальной тактики лечения у данной категории пациентов.

В результате проведенных исследований у 3 (6,1%) из 49 пациентов был обнаружен высокий уровень микросателлитной нестабильности (MSI-High), низкий уровень (MSI-Low) выявлен у 9 (18,4%) пациентов, отсутствие микросателлитной нестабильности (статус MSI-Stable) наблюдалось у 37 (75,5%). В результате проведенных исследований не выявлено влияния микросателлитной нестабильности в опухолевой ткани на показатели бессобытийной выживаемости ($p=0,92$; Log-rank test).

Низкий уровень экспрессии белка Вах обнаружен в 37,2% случаев, Bcl-2 – у 18% пациентов. Высокая экспрессия белка Вах наблюдалась в 27,0% случаев, Bcl-2 – у 10,1% пациентов. Экспрессия проапоптотического Вах в опухолевой ткани легкого коррелировала со степенью дифференцировки опухоли ($r=-0,2468$; $p<0,05$) и антиапоптотическим антигеном Bcl-2 ($r=0,2$; $p<0,05$). Проведенный анализ полученных данных свидетельствует об отсутствии зависимости между уровнем экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 в опухолевой ткани и показателями бессобытийной выживаемости ($p=0,243$, Log-rank test). Кроме того, не отмечено влияния уровня экспрессии проапоптотического белка Вах на показатели бессобытийной выживаемости ($p=0,84$; Log-rank test).

Высокий уровень экспрессии EGFR выявлен у 7 (5,1%) из 137 пациентов. Отсутствие экспрессии EGFR установлено в 51,8% случаев. Влияния экспрессии EGFR на бессобытийную выживаемость не выявлено ($p=0,294$, Log-rank test). Экспрессия EGFR в опухолевой ткани легкого имела обратную корреляционную зависимость с гистологическим вариантом опухоли ($r=-0,37$; $p<0,001$) и незначительно коррелировала с ядерным антигеном пролиферативной активности Ki-67 ($r= 0,2$; $p<0,05$). Экспрессия VEGF в опухолевой ткани легкого слабо коррелировала со стадией заболевания ($r=-0,2367$; $p<0,05$) и экспрессией ядерного антигена пролиферативной активности Ki-67 ($r= 0,3049$; $p<0,05$).

Амплификация гена c-тус выявлена у 13 (43,3%) из 30 пациентов. При проведении статистической обработки полученных данных зависимости между наличием амплификации гена c-тус в опухолевой ткани и показателями бессобытийной выживаемости не выявлено ($p=0,16$, Log-rank test).

Определение уровня гиперметилирования гена p16INK4A выполнялось 76 пациентам, в 30,9% случаев обнаружено гиперметилирование промотора данного гена. При отсутствии гиперметилирования гена p16INK4A у 26 (34,2%) из 76 пациентов отмечено прогрессирование опухолевого процесса, при наличии гиперметилирования гена p16INK4A прогрессирование опухолевого процесса отмечено у 10 (29,4%) из 34 пациентов. Влияния данного фактора на уровень бессобытийной выживаемости не выявлено ($p>0,05$; Log-rank test).

Определение уровня экспрессии белка PCNA выполнялось 142 пациентам. Высокий уровень экспрессии выявлен у 107 (75,4%), низкий – у 35 (24,6%) пациентов. Не установлено влияния уровня экспрессии PCNA на показатели бессобытийной выживаемости ($p>0,05$; Log-rank test).

Результаты исследований экспрессии белка p53 показали, что статически значимые различия имеются при выделении двух групп пациентов с уровнем экспрессии от 0 до 2 баллов и равным 3 и более баллам ($p<0,05$). Высокий уровень экспрессии p53 установлен в опухолевой ткани 86 (59,7%) из 144 пациентов, низкий – у 58 (40,3%). Согласно полученным результатам корреляционного анализа по Спирмену, экспрессия белка p53 имела слабую корреляционную связь со степенью дифференцировки опухоли ($r=0,20$; $p=0,0015$) и уровнем экспрессии Вах ($r=0,30$; $p=0,003$). Установлено, что уровень экспрессии апоптотического белка p53 оказывал влияние на показатели бессобытийной выживаемости пациентов, страдающих НМРЛ ($p=0,005$, Log-rank test).

Анализ бессобытийной выживаемости пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого, с учетом молекулярно-генетических маркеров. При анализе бессобытийной выживаемости пациентов, страдающих НМРЛ I-II стадии, с учетом молекулярных маркеров установлено статистически значимое влияние экспрессии белка Ki-67 на показатели бессобытийной выживаемости ($p=0,020$, Log-rank test). Получены значимые различия в группах

пациентов с высоким ($>20\%$) и низким ($\leq 20\%$) уровнями экспрессии Ki-67 (рисунок 2).

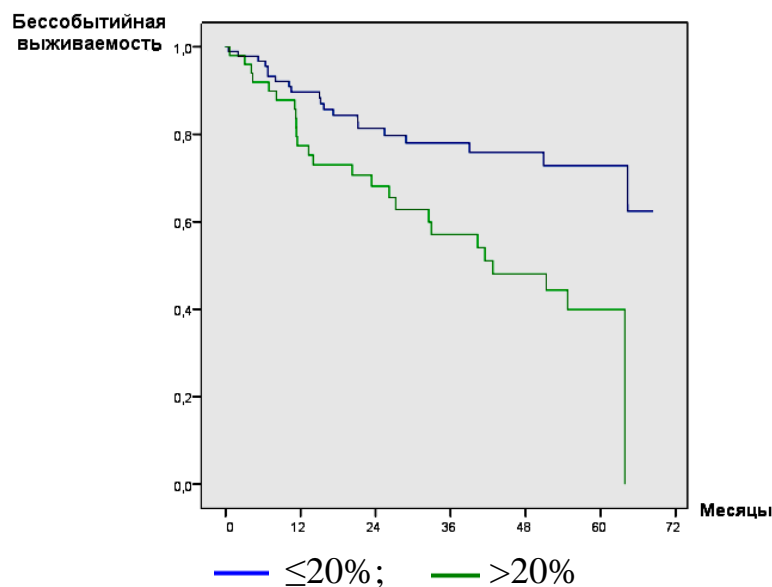


Рисунок 2. – Кривые бессобытийной выживаемости пациентов, страдающих НМРЛ, в зависимости от уровня экспрессии Ki-67

Кроме того, нами проанализирована эффективность цитостатической терапии у пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого, в зависимости от уровня экспрессии белка Ki-67. В результате статистического анализа выживаемости пациентов наблюдаемой группы отмечено влияние уровня экспрессии пролиферативного маркера Ki-67 ($p=0,001$; Log-rank test) на показатели бессобытийной выживаемости (рисунок 3).

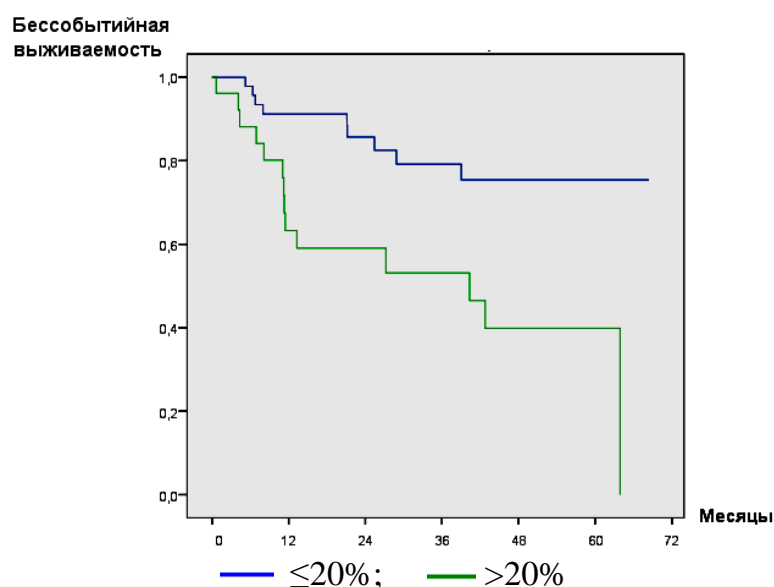


Рисунок 3. – Бессобытийная выживаемость пациентов, страдающих НМРЛ, без адъювантной химиотерапии в зависимости от уровня Ki-67

Таким образом, выявлено различие показателей бессобытийной выживаемости пациентов наблюдаемой группы: при высоком значении Ki-67

вероятность прогрессирования опухолевого процесса или летального исхода значимо выше ($p < 0,05$), чем при низком уровне экспрессии белка Ki-67.

В результате статистического анализа установлено, что в исследуемой группе статистически значимых различий в показателях бессобытийной выживаемости при сравнении групп пациентов с высоким и низким уровнями экспрессии Ki-67 ($p = 0,236$; Log-rank test) не выявлено, что не позволяет рассматривать Ki-67 как предиктивный маркер, определяющий чувствительность опухоли к химиотерапии по схеме цисплатин, навельбин.

В результате проведенного анализа определены статистически значимые различия показателей бессобытийной выживаемости пациентов ($p = 0,005$; Log-rank test) в зависимости от уровня экспрессии белка p53. Уровень экспрессии апоптотического белка p53 статистически значимо влияет на показатели бессобытийной выживаемости данных пациентов (рисунок 4).

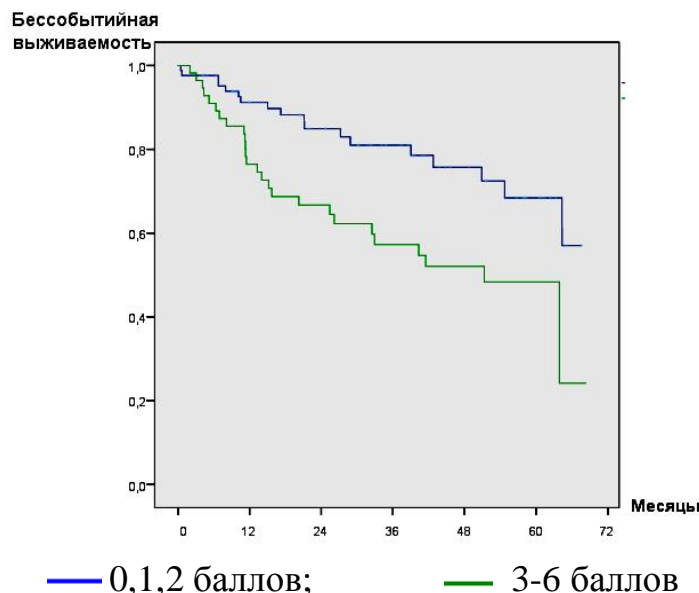


Рисунок 4. – Кривые бессобытийной выживаемости пациентов, страдающих НМРЛ, в зависимости от уровня экспрессии белка p53

В результате анализа полученных данных выявлено статистически значимое влияние ($p = 0,01$; Log-rank test) метастатического поражения регионарных лимфатических узлов на показатели бессобытийной выживаемости пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого I-II стадии (рисунок 5).

Кроме того, при сравнении двух групп пациентов: курящих и некурящих, выявлено значимое влияние статуса курения пациентов на показатели бессобытийной выживаемости: у курящих пациентов риск наступления неблагоприятного исхода заболевания значимо выше ($p = 0,027$; Log-rank test), чем у некурящих (рисунок 5).

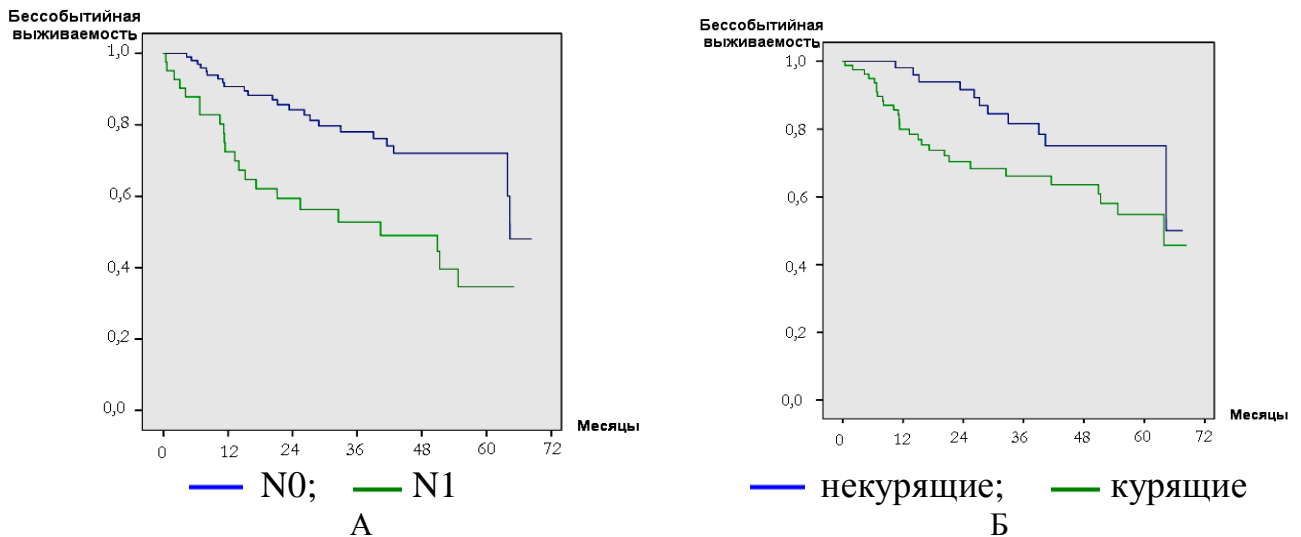


Рисунок 5. – Кривые бессобытийной выживаемости пациентов в зависимости от метастатического поражения лимфатических узлов (А) и статуса курения (Б)

Пациенты, страдающие НМРЛ, после радикального хирургического лечения были разделены на группы в зависимости от значения порогового уровня экспрессии гена ERCC1, равного 160 отн. ед. (группа 1 – низкий уровень ERCC1 ≤ 160 отн. ед., группа 2 – высокий уровень ERCC1 > 160 отн. ед.). Установлено, что у пациентов, не получавших адъювантную химиотерапию, бессобытийная выживаемость не зависела от уровня экспрессии гена ERCC1 в опухолевой ткани ($p=0,789$; Log-Rank test). Результаты анализа отражены на рисунке 6. При сравнительном анализе полученных данных по уровню экспрессии гена ERCC1 у пациентов после хирургического лечения и адъювантной полихимиотерапии установлены статистически значимые различия ($p=0,01$) в бессобытийной выживаемости (рисунок 6).

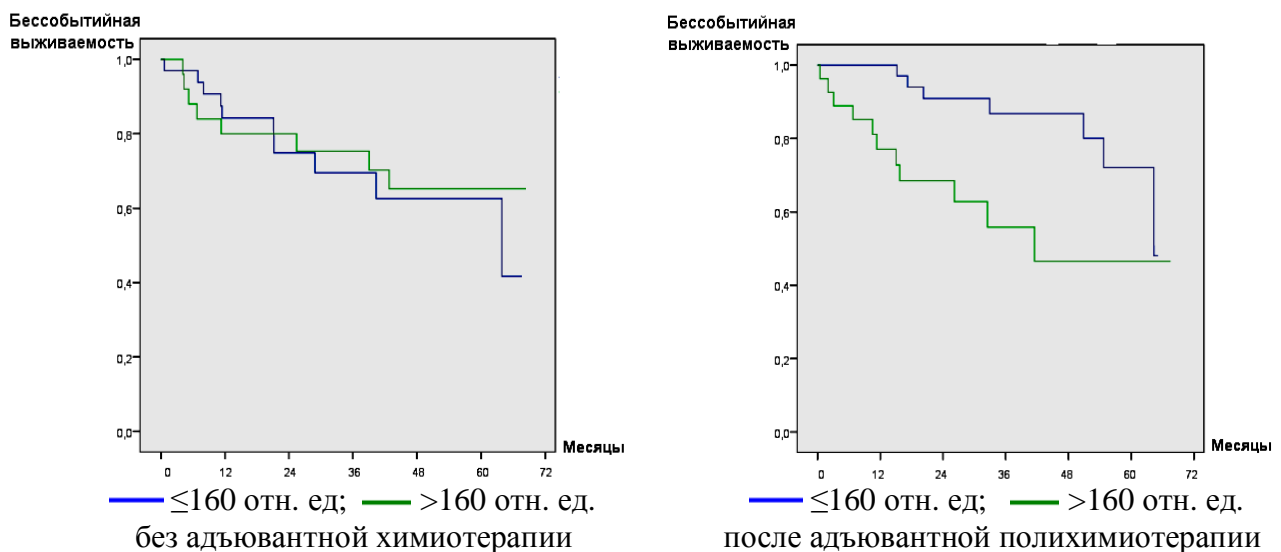


Рисунок 6. – Бессобытийная выживаемость радикально оперированных пациентов в зависимости от уровня экспрессии ERCC1

У пациентов, уровень экспрессии ERCC1 в опухолевой ткани которых не

превышал порогового значения 160 отн. ед., проведение адъювантной химиотерапии после радикального хирургического лечения статистически значимо ($p=0,01$; Log-rank test) увеличивало показатели бессобытийной выживаемости в сравнении с группой с высоким уровнем ERCC1. Опухолевые клетки с низким уровнем экспрессии гена ERCC1 являются более чувствительными к проводимой терапии, чем опухоли с высоким уровнем экспрессии ERCC1.

Анализ бессобытийной выживаемости пациентов, страдающих НМРЛ, на основе многофакторного анализа молекулярных и клинических показателей. По результатам однофакторного анализа установлено, что вероятность неблагоприятного прогноза (показатели бессобытийной выживаемости) значимо ассоциирована с уровнем экспрессии пролиферативного маркера Ki-67 и апоптотического белка p53, наличием метастатического поражения регионарных лимфатических узлов и статусом курения. Однако при многофакторном анализе только уровень экспрессии апоптотического белка p53, наличие метастатического поражения регионарных лимфатических узлов и статус курения служили независимыми факторами (таблица 1).

Таблица 1. – Независимые признаки, сопряженные с прогрессированием и неблагоприятным исходом

Показатель	Параметры модели						
	коэффициент В	стандартное отклонение	критерий Вальда	р	отношение рисков (Exp(B))	95,0% ДИ	
						нижняя	верхняя
Ki67	0,190	0,372	0,262	0,609	1,210	0,583	2,509
p53	0,868	0,374	5,387	0,020	2,382	1,145	4,957
N	0,769	0,329	5,467	0,019	2,157	1,132	4,107
Статус курения	0,830	0,388	4,570	0,033	2,293	1,071	4,906

Согласно полученным данным многофакторного анализа независимыми признаками, сопряженными с наступлением события (прогрессирование и/или неблагоприятный исход), являются уровень экспрессии апоптотического белка p53 ($p=0,020$), наличие метастатического поражения регионарных лимфатических узлов ($p=0,019$) и статус курения ($p=0,033$), которые являются прогностическими факторами и позволяют прогнозировать течение немелкоклеточного рака легкого и индивидуализировать лечебную тактику ведения данной категории пациентов. Поскольку риски для каждого фактора находятся в пределах равных значений ($\text{Exp}(B) = 2,157 \div 2,382$), для учета влияния каждого фактора в модели разработана балльная система распределения пациентов на группы (наличие фактора – один балл, отсутствие – 0 баллов). Таким образом, пациенты были разделены на группы в зависимости от набранной суммы баллов и проанализирована их выживаемость (рисунок 7).

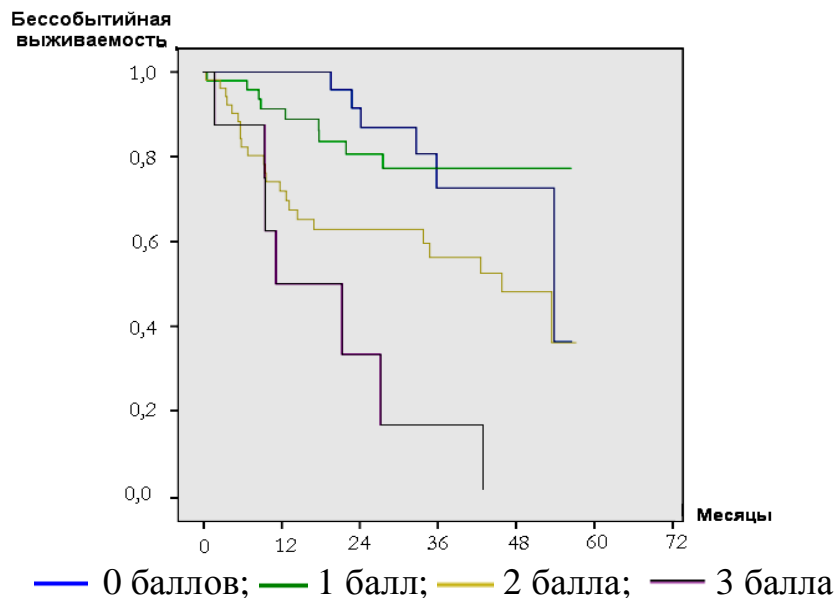


Рисунок 7. – Бессобытийная выживаемость пациентов в 4 группах в зависимости от суммы баллов факторов прогноза

Так как группы пациентов с суммами баллов 0 и 1 не имеют статистически значимых различий ($p=0,89$, Log-rank test), они были объединены и анализировалась выживаемость пациентов в трех группах: в первую группу были отнесены пациенты с суммой баллов, равной 0 и 1, во вторую группу – с суммой баллов, равной 2 и в третью группу пациентов – с суммой баллов, равной 3 ($p=0,001$, Log-rank test) (рисунок 8).

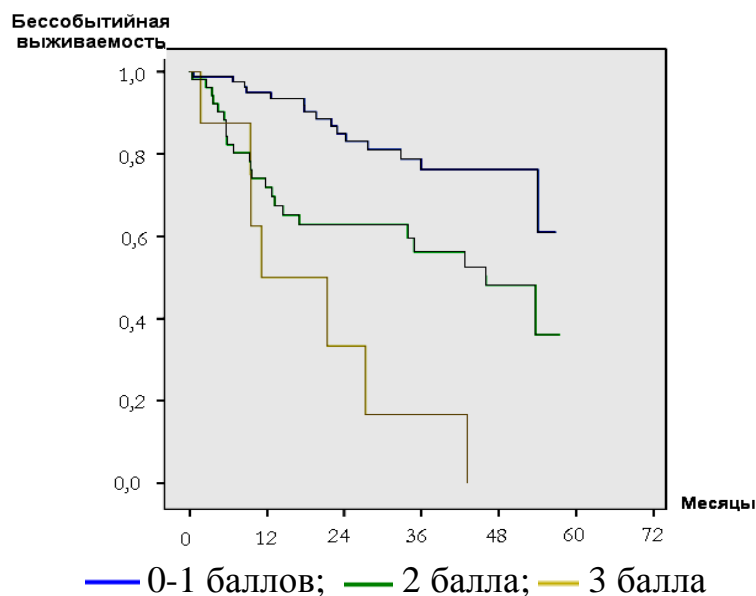


Рисунок 8. – Бессобытийная выживаемость пациентов в 3 группах в зависимости от суммы баллов факторов прогноза

Бессобытийная трехлетняя выживаемость для пациентов с суммой баллов, равной 0 или 1 баллу, составляет 82,3%, для пациентов с суммой баллов, равной 2, – составляет 56,6% и при наличии всех трех факторов (сумма баллов 3)

бессобытийная 3-летняя выживаемость составляет 12,5%, т.е. с увеличением суммы баллов возрастает риск наступления неблагоприятного исхода.

Таким образом, согласно полученным данным многофакторного анализа определены критерии для формирования групп риска пациентов, включающие такие независимые факторы, как уровень экспрессии апоптотического белка p53 ($p=0,020$), наличие метастатического поражения регионарных лимфатических узлов ($p=0,019$) и статус курения ($p=0,033$). На основании данных факторов разработана математическая модель прогнозирования течения НМРЛ I-II стадии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Немелкоклеточный рак легкого характеризуется молекулярной гетерогенностью, обусловленной микросателлитной нестабильностью в 24,5% случаев, полиморфизмом генов GSTT1 и GSTM1 – в 24,3% и 45,0% случаях соответственно, мутацией в протоонкогене K-ras – 20,6%, высокой экспрессией белка Ki-67 – 38,6%, высокой экспрессией EGFR – 5,1%, наличием экспрессии VEGF – 3,7%, высокой экспрессией ERCC1 – 42,2%, белка p53 – 59,7%, Ваx – 27,0%, Bcl-2 – 10,1%, PCNA – 75,4%, гиперметилированием гена p16INK4A – 30,9%, полисомией 17 хромосомы – 50,0%, амплификацией генов c-myc в 43,3% и Her-2/neu – в 3,7% случаев. Выявленная молекулярная вариабельность немелкоклеточного рака легкого позволяет стратифицировать пациентов на группы высокого и низкого риска прогрессирования заболевания [1, 2, 6, 9, 14, 15].

2. При разделении пациентов на группы в зависимости от уровня экспрессии белка p53, максимальные различия в выживаемости отмечены при значении экспрессии в 2 балла. Данное значение является пороговым и позволяет стратифицировать пациентов на группы высокого и низкого риска прогрессирования заболевания. При низком уровне экспрессии p53 0-2 балла пациенты имеют более высокую бессобытийную выживаемость, чем при значении 3-6 баллов ($p<0,05$). При стратификации пациентов в зависимости от уровня экспрессии Ki-67, максимальные различия установлены в группах при пороговом значении 20%. Экспрессия белка Ki-67 $>20\%$ в опухолевой ткани пациента является признаком неблагоприятного прогноза ($p<0,05$), однако высокий уровень корреляции маркера пролиферации Ki-67 с ядерным белком p53 ($r=0,52$, $p<0,05$) не позволяет рассматривать Ki-67 как независимый прогностический фактор [2, 3, 10, 12, 13].

3. Значимым показателем, определяющим резистентность опухоли к проведению адьювантной химиотерапии по схеме цисплатин, навельбин при немелкоклеточном раке легкого I-II стадии, является уровень экспрессии гена ERCC1. Значение уровня экспрессии, равное 160 относительным единицам,

является пороговым и служит предиктивным маркером устойчивости опухоли к адьювантной химиотерапии. Выявлена статистически значимая связь высокого уровня экспрессии ERCC1 в опухолевой ткани (>160 отн.ед.) с низкой бессобытийной выживаемостью ($p < 0,05$) и лекарственной устойчивостью опухоли у пациентов, получавших адьювантную химиотерапию [3, 4, 16].

4. Разработана математическая модель прогнозирования течения заболевания, позволяющая стратифицировать пациентов на группы высокого и низкого риска развития неблагоприятного прогноза. Диагностически значимыми независимыми факторами математической модели для прогнозирования течения заболевания у пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого I-II стадии, являются: уровень экспрессии мутантного белка p53 ($p = 0,020$; OR=2,38; 95% ДИ 1,15-4,96), наличие метастатического поражения регионарных лимфатических узлов ($p = 0,019$; OR=2,16; 95% ДИ 1,13-4,11) и статус курения ($p = 0,033$; OR=2,29; 95% ДИ 1,07-4,91) [2, 3, 4, 18].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Применение разработанной математической модели прогнозирования течения заболевания рекомендовано в учреждениях здравоохранения онкологического профиля для стратификации пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого I-II стадии, на группы высокого и низкого риска прогрессирования заболевания для выработки индивидуальной тактики лечения данной категории пациентов [рационализаторское предложение, удостоверение № 141 от 14.12.2011 г., рационализаторское предложение, удостоверение № 147 от 24.02.2012 г.].

2. Для выявления пациентов высокого риска прогрессирования немелкоклеточного рака легкого I-II стадии целесообразно проводить сочетанное определение экспрессии маркера p53 в опухолевой ткани, а также учитывать наличие метастатического поражения регионарных лимфатических узлов и статус курения у данной категории пациентов [18].

3. С целью определения химиорезистентности опухоли у пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого I-II стадии, целесообразно проводить определение уровня экспрессии гена ERCC1 после выполнения хирургического лечения. При высоком уровне экспрессии >160 отн. ед. опухоль более устойчива к химиотерапии по схеме цисплатин, навельбин, чем при низком значении ≤ 160 отн. ед. Определение уровня экспрессии гена ERCC1 также может применяться для дальнейшего изучения механизмов лекарственной резистентности опухолевого процесса [16].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Статьи

1. Полиморфизм генов глутатионтрансферазы и гена K-RAS у больных раком легкого и туберкулезом // В. А. Матусевич, Р. М. Смолякова, В. П. Курчин, И. М. Мишута / Онколог. журн. – 2010. – Т. 4, № 2. – С. 57–60.
2. Матусевич, В. А. Прогностическая значимость экспрессии маркеров пролиферации при немелкоклеточном раке легкого / В. А. Матусевич // Экологический вестник. – 2011. – № 3. – С. 57–60.
3. Матусевич, В. А. Прогностическое значение экспрессии белков p53, bcl-2 и bax в опухолевой ткани больных немелкоклеточным раком легкого I-II стадии / В. А. Матусевич // Мед. панорама. – 2012. – № 4. – С. 42–45.
4. Матусевич, В. А. Предсказательная ценность молекулярно-биологических маркеров при НМРЛ I-II стадии / В. А. Матусевич // Онколог. журн. – 2014. – Т. 8, № 3. – С. 46–53.

Тезисы докладов

5. Метилирование промотора гена p16 у больных немелкоклеточным раком легкого / В. А. Матусевич, Р. М. Смолякова, В. П. Курчин, И. М. Мишута, Е. М. Гарост // VI съезд онкологов и радиологов стран СНГ : материалы съезда, Душанбе, 1–4 окт. 2010 г. – Душанбе, 2010. – С. 48.
6. Метилирование промотора гена p16 и мутации в гене K-RAS у больных немелкоклеточным раком легкого / В. А. Матусевич, Р. М. Смолякова, О. В. Готько, И. М. Мишута // Актуальные проблемы медицины : материалы Республиканских науч.-практ. конф. «Современные мол.-ген. методы диагностики в медицине», Гомель, 22 окт. 2010 г. и «Регуляторные механизмы метаболических процессов в развитии эндокринной патологии», Гомель, 5 ноябр. 2010 г. / РНПЦ рад. медицины и экологии человека. – Гомель, 2010. – С. 35–36.
7. Матусевич, В. А. Прогностическая значимость определения молекулярно-биологических маркеров рака легкого / В. А. Матусевич, И. М. Мишута, А. Н. Курченков // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 62 итоговой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых университета, Витебск, 22–23 апр. 2010 г. / УО «Витебский государственный ордена дружбы народов мед. университет». – Витебск, 2010. – С. 80–81.
8. Байрачная, М. В. Особенности гиперметилирования в диагностике и прогнозе злокачественных новообразований / М. В. Байрачная, В. А. Матусевич, Э. В. Макаревич // Сахаровские чтения 2011 года: экологические проблемы XXI века :

материалы 11-й Международной науч. конф., Минск, 19–20 мая 2011 г. / Международ. государственный эколог. университет им. А. Д. Сахарова. – Минск, 2011. – С. 86–87.

9. Прогностическая значимость экспрессии белков апоптоза bcl-2 и bax при немелкоклеточном раке легкого / В. А. Матусевич, О. В. Готько, Т. И. Набебина, И. М. Мишута, Р. М. Смолякова, В. П. Курчин // Человек и лекарство : сборник материалов XVIII Рос. национального конгресса, Москва, 11–15 апр. 2011 г. – М., 2011. – С. 93.

10. Прогностическая значимость молекулярно-биологических маркеров P53 и ВАХ у больных немелкоклеточным раком легкого в динамике лечения / О. В. Готько, В. А. Матусевич, Т. И. Набебина, И. М. Мишута, Р. М. Смолякова, В. П. Курчин // Инновации в онкологической практике : материалы Рос. науч.-практ. конф. с международным участием, Барнаул, Россия, 14–15 июня 2011 г. / Под редакцией д.м.н., проф. А. Ф. Лазарева. – Барнаул, 2011. – С. 102–103.

11. Оценка прогностической значимости экспрессии онкопротеинов апоптоза bcl-2 и bax при немелкоклеточном раке легкого / О. В. Готько, В. А. Матусевич, А. Ч. Дубровский, Р. М. Смолякова, В. П. Курчин, И. М. Мишута, С. Ю. Смирнов // Онколог. журн. – 2011. – Т. 5, № 3 : материалы IV съезда онкологов Респ. Беларусь, Минск, 3–5 нояб. 2011 г. – С. 114.

12. Оценка молекулярно-биологического профиля при раке легкого / В. А. Матусевич, О. В. Готько, И. М. Мишута, Т. И. Набебина, В. П. Курчин, Р. М. Смолякова // Онколог. журн. – 2011. – Т. 5, № 3 : материалы IV съезда онкологов Респ. Беларусь, Минск, 3–5 нояб. 2011 г. – С. 115.

13. Результаты оценки предиктивных маркеров терапии у больных немелкоклеточным раком легкого / В. А. Матусевич, Р. М. Смолякова, О. С. Вшивкова, И. М. Мишута, В. П. Курчин // Онколог. журн. – 2011. – Т. 5, № 3 : материалы IV съезда онкологов Респ. Беларусь, Минск, 3–5 нояб. 2011 г. – С. 116.

14. Aberrant promoter methylation of p16INK4A among Belarusian lung and pancreatic cancer patients / M. V. Bayrachnaya, R. M. Smolyakova, E. V. Makarevich, V. A. Matusevich, M. Y. Revtovich // Hot issues in molecular pathology : materials of Technology transfer in diagnostic pathology 7th Central European regional meeting, Siofok, Hungary, May 14–16, 2012 / Hungarian Div. Int. Acad. Pathol. – Siofok, 2012. – P. 31.

15. Прогностическая значимость амплификации генов Her-2/neu и C-тус, а также полисомии 17 хромосомы при немелкоклеточном раке легкого I–II стадии / В. А. Матусевич, В. П. Курчин, О. В. Бамбиза, О. В. Готько, И. В. Смолякова // VII съезд онкологов и радиологов стран СНГ: материалы съезда, Астана, Республика Казахстан, 5–7 сент. 2012 г. – Астана, 2012. – С. 227–228.

16. Матусевич, В. А. Прогностическая оценка экспрессии генов ERCC1, TOP1, TOP2A и MDR1 у пациентов немелкоклеточным раком легкого / В. А.

Матусевич, О. В. Готько // Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине : сборник тезисов III Международной науч.-практ. конф., Казань, 22–24 нояб. 2012 г. / Общество онкологов и радиологов Казахстана ; редкол.: В. Н. Богатырев [и др.]. – Казань, 2012. – С. 337–338.

17. Байрачная, М. В. Прогностическая значимость гиперметилирования промоторного участка гена p16 у больных немелкоклеточным раком легкого I-II стадии / М. В. Байрачная, В. А. Матусевич // Сибирский онколог. журн. – 2012, приложение №1 : Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии : материалы VII регионарной конф. молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н. В. Васильева, Томск, 27 апр. 2012. – С. 17–18.

Инструкция по применению

18. Иммуногистохимические методы определения прогностических факторов при немелкоклеточном раке легкого I-IIВ стадии : инструкция по применению. Рег. № 113-1111 / ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» ; сост.: В. В. Жарков, Р. М. Смолякова, В. П. Курчин, В. А. Матусевич, И. М. Мишута, О. В. Готько, Т. И. Набебина, А. Н. Курченков. – Минск, 2012. – 9 с.

РЭЗІЮМЭ**Матусевіч Віктар Аляксандравіч****Прагнастычная значнасць малекулярна-генетычных маркераў пры
нядробнаклетачным раку лёгкага I-II стадыі**

Ключавыя словы: нядробнаклетачны рак лёгкага, малекулярна-біялагічныя маркеры, беспадзейная выжывальнасць, індывідуалізацыя прагназавання плыні захворвання, матэматычная мадэль.

Мэта даследавання: павысіць эфектыўнасць прагназавання працягу захворвання ў пацыентаў, якія пакутуюць на нядробнаклетачны рак лёгкага I-II стадыі, на аснове распрацоўкі матэматычнай мадэлі з улікам малекулярна-генетычных асаблівасцей пухліны для індывідуалізацыі тактыкі лячэння дадзенай катэгорыі пацыентаў.

Матэрыял і метады даследавання: матэрыялам для даследавання паслужылі дадзеныя ад 147 пацыентаў, якія пакутуюць на нядробнаклетачны рак лёгкага IA-IIВ стадыі, якія знаходзіліся на спецыяльным лячэнні ў ДУ «РНПЦ анкалогіі і медыцынскай радыялогіі ім. М.М. Аляксандрава» у перыяд з 2008 па 2012 г.г. З выкарыстаннем малекулярна-генетычных метадаў выкананы даследаванні біялагічных маркераў. Статыстычны аналіз і ацэнка паказчыкаў беспадзейнай выжывальнасці выкананы з выкарыстаннем камп'ютарных пакетаў статыстычных праграм SPSS (версія 20.0.0, ЗША), Excel 2007 («Microsoft Office»).

Атрыманыя вынікі і іх навізна. У дысертацыйнай працы праведзена комплексная ацэнка малекулярных фактараў у індывідуальным прагназаванні плыні нядробнаклетачнага раку лёгкага. Выкананы аналіз адчувальнасці і рэзістэнтнасці клетак пухліны пры правядзенні ад'ювантнай хіміятэрапіі, устаноўлены парогавыя значэнні значных маркераў (узровень экспрэсіі апапатычнага бялку P53, роўны 2 балам і ўзровень экспрэсіі бялку Ki-67, роўны 20%, з'яўляюцца парогавымі пры стратыфікацыі пацыентаў на групы высокай і нізкай рызыкі прагрэсавання захворвання, узровень экспрэсіі гена ERCC1, роўны 160 адносным адзінкам, з'яўляецца парогавым значэннем пры ацэнцы адчувальнасці пухліны да ад'ювантнай хіміятэрапіі). Распрацавана матэматычная мадэль прагназавання плыні захворвання, якая ўключае ўзровень экспрэсіі бялку p53, статус курэння і параженне рэгіанарных лімфавузлаў, якая дазваляе стратыфікаваць пацыентаў на групы высокай і нізкай рызыкі развіцця неспрыяльнага прагнозу.

Ступень выкарыстання: матэрыялы дысертацыйнай працы выкарыстоўваюцца ў РНПЦ АМР ім. М.М. Аляксандрава.

Вобласць выкарыстання: анкалогія, лабараторная дыягностыка.

РЕЗЮМЕ

Матусевич Виктор Александрович

Прогностическая значимость молекулярно-генетических маркеров при немелкоклеточном раке легкого I-II стадии

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, молекулярно-биологические маркеры, бессобытийная выживаемость, индивидуализация прогнозирования течения заболевания, математическая модель.

Цель исследования: повысить эффективность прогнозирования течения заболевания у пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого I-II стадии, на основе разработки математической модели с учетом молекулярно-генетических особенностей опухоли для индивидуализации тактики лечения данной категории пациентов.

Материал и методы исследования: материалом для исследования послужили данные 147 пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого IA-IIВ стадии, находившихся на специальном лечении в ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» в период с 2008 по 2012 гг. С использованием молекулярно-генетических методов выполнены исследования биологических маркеров. Статистический анализ и оценка показателей бессобытийной выживаемости выполнены с использованием компьютерных пакетов статистических программ SPSS (версия 20.0.0, США), Excel 2007 («Microsoft Office»).

Полученные результаты и их новизна. В диссертационной работе проведена комплексная оценка молекулярных факторов в индивидуальном прогнозировании течения немелкоклеточного рака легкого. Выполнен анализ чувствительности и резистентности опухолевых клеток при проведении адъювантной химиотерапии, установлены пороговые значения значимых маркеров (уровень экспрессии апоптотического белка p53 равный 2 баллам и уровень экспрессии белка Ki-67, равный 20%, являются пороговыми при стратификации пациентов на группы высокого и низкого риска прогрессирования заболевания, уровень экспрессии гена ERCC1, равный 160 относительным единицам, является пороговым значением при оценке чувствительности опухоли к адъювантной химиотерапии). Разработана математическая модель прогнозирования течения заболевания, включающая уровень экспрессии белка p53, статус курения и поражение регионарных лимфоузлов, позволяющая стратифицировать пациентов на группы высокого и низкого риска развития неблагоприятного прогноза.

Степень использования: материалы диссертационной работы используются в РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова.

Область применения: онкология, лабораторная диагностика.

Abstract**Matusevich Viktor****Prognostic significance of molecular genetic markers in non-small cell lung cancer stage I-II**

Keywords: non-small cell lung cancer, molecular biological markers, event-free survival, individualization prognosis of the disease, the mathematical model.

Objective: improve prediction of the disease in patients with non-small cell lung cancer stage I-II, through the development of a mathematical model based on molecular and genetic characteristics of the tumor for the individualization of treatment strategies in these patients.

Material and methods: materials for the study were the data of 147 patients suffering from non-small cell lung cancer stage IA-IIB in the special treatment in N.N. Alexandrov National Cancer Center from 2008 to 2012. With the use of molecular genetic techniques made the study of biological markers. Statistical analysis and evaluation indicators event-free survival performed using computer statistical software package SPSS (version 20.0.0, USA), Excel 2007 («Microsoft Office»).

Results and innovation. There is a complex assessment of molecular factors in predicting individual course of the non-small cell lung cancer has been made in this thesis. The analysis of sensitivity and resistance of tumor cells in adjuvant chemotherapy, the set thresholds significant markers (apoptotic protein p53 expression level is equal 2, and protein Ki-67 expression level, equal to 20% when the threshold is stratification of patients into groups: low and high risk of disease progression. The expression level of the gene ERCC1, equal to 160 relative units is the threshold value when evaluating tumor resistance to adjuvant chemotherapy). A mathematical model, which includes protein p53 expression level, smoking and lymph nodes lesion for predicting the course of the disease, allowing to stratify patients into high and low risk for unfavorable prognosis.

Implementation degree: the materials of the thesis are being used at N.N. Alexandrov National Cancer Center.

Area of use: oncology, laboratory diagnostics.