

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-253-260>  
УДК 616.24-006.6-08-036.8:615.28:575.113



Оригинальная статья / Research article

## Прогностическая и предиктивная значимость экспрессии мРНК генов ABC-транспортеров у пациентов с немелкоклеточным раком легкого

М. М. Цыганов<sup>1,3</sup>, М. К. Ибрагимова<sup>1,2,3</sup>✉, Е. О. Родионов<sup>1</sup>, А. А. Фролова<sup>1</sup>,  
С. В. Миллер<sup>1</sup>, О. В. Черемисина<sup>1</sup>, С. А. Тузиков<sup>1</sup>, Н. В. Литвяков<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ онкологии, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ РАН), 634009, Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (ТГУ), 634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина, д. 36

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России), 634050, г. Томск, Московский тракт, д. 2

✉ Контактное лицо: Ибрагимова Марина Константиновна. E-mail: imk1805@yandex.ru

ORCID: М. М. Цыганов – <https://orcid.org/0000-0001-7419-4512>; М. К. Ибрагимова – <https://orcid.org/0000-0001-8815-2786>;

Е. О. Родионов – <https://orcid.org/0000-0003-4980-8986>; А. А. Фролова – <https://orcid.org/0000-0003-3297-1680>; С. В. Миллер – <https://orcid.org/0000-0002-5365-9840>;

О. В. Черемисина – <https://orcid.org/0000-0001-7234-4708>; С. А. Тузиков – <https://orcid.org/0000-0002-0884-1838>; Н. В. Литвяков – <https://orcid.org/0000-0002-0714-8927>.

Статья поступила: 06.09.2022

Статья принята в печать: 25.10.2022

Статья опубликована: 25.11.2022

### Резюме

**Введение.** На сегодняшний день одной из причин неэффективности проводимой химиотерапии при разных злокачественных новообразованиях, в том числе и при раке легкого, считают формирование фенотипа множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) у опухолевых клеток, которая обусловлена экспрессией генов ABC-транспортеров.

**Цель.** Целью работы явилась оценка экспрессии генов ABC-транспортеров в процессе химиотерапии и анализ связи с эффективностью химиотерапии и прогнозом заболевания.

**Материалы и методы.** В работе был использован биопсийный и операционный материал от 91 больного немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) IIB–IIIA стадии. В схему лечения было включено 2 курса неоадъювантной химиотерапии (НХТ), операция и 3 курса адъювантной химиотерапии (АХТ) «платиновыми дуплетами». Из образцов выделяли РНК с последующей постановкой количественной ПЦР для оценки экспрессии генов *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2*.

**Результаты и обсуждение.** Показано, что уровень экспрессии исследуемых генов не связан с эффектом НХТ у больных раком легкого, кроме гена *ABCC5*, у которого показана связь на уровне выраженной тенденции ( $p = 0,07$ ). Так же было показано, что в группе больных с объективным ответом на химиотерапию частота снижения экспрессии генов *ABCC1* ( $p = 0,01$ ) и *ABCC5* ( $p = 0,004$ ) статистически значимо выше по сравнению с группой пациентов со стабилизацией. Далее методом Каплана – Майера было установлено, что снижение экспрессии связано с высокими показателями безметастатической выживаемостью (БМВ). Наибольшие показатели 5-летней БМВ (более 85 %) отмечаются у пациентов со снижением экспрессии генов *ABCB1* и *ABCG2*,  $\log$ -rank test  $p = 0,0007$  и  $p = 0,002$  соответственно.

**Заключение.** Таким образом, показано, что изменение экспрессии генов ABC-транспортеров связано с эффективностью химиотерапии и прогнозом заболевания. Полученные данные могут быть использованы в качестве основы для обнаружения потенциальных мишеней для лекарственных средств.

**Ключевые слова:** экспрессия генов, немелкоклеточный рак легкого, ABC-транспортеры, прогноз заболевания, эффект химиотерапии

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** М. М. Цыганов, М. К. Ибрагимова, А. А. Фролова написали текст рукописи. Е. О. Родионов, С. В. Миллер провели анализ полученных данных. О. В. Черемисина осуществила получение данных для анализа. С. А. Тузиков, Н. В. Литвяков разработали дизайн исследования.

**Финансирование.** Работа поддержана грантом РФФИ № 20-015-00023 «Исследование роли вируса папилломы человека (ВПЧ) в канцерогенезе немелкоклеточного рака легкого».

**Соответствие принципам этики.** Проведенная работа соответствует этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. От лица, участвующего в исследовании, получено информированное согласие.

**Для цитирования:** Цыганов М. М., Ибрагимова М. К., Родионов Е. О., Фролова А. А., Миллер С. В., Черемисина О. В., Тузиков С. А., Литвяков Н. В. Прогностическая и предиктивная значимость экспрессии мРНК генов ABC-транспортеров у пациентов с немелкоклеточным раком легкого. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2022;11(4):253–260. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-253-260>

## Prognostic and Predictive Significance of mRNA Expression of ABC-transporter Genes in Patients with Non-small Cell Lung Cancer

Matvey M. Tsyganov<sup>1,3</sup>, Marina K. Ibragimova<sup>1,2,3</sup>✉, Evgeny O. Rodionov<sup>1</sup>, Anastasia A. Frolova<sup>1</sup>,  
Sergey V. Miller<sup>1</sup>, Olga V. Cheremisina<sup>1</sup>, Sergey A. Tuzikov<sup>1</sup>, Nikolay V. Litvyakov<sup>1</sup>

© Цыганов М. М., Ибрагимова М. К., Родионов Е. О., Фролова А. А., Миллер С. В., Черемисина О. В., Тузиков С. А., Литвяков Н. В., 2022

© Tsyganov M. M., Ibragimova M. K., Rodionov E. O., Frolova A. A., Miller S. V., Cheremisina O. V., Tuzikov S. A., Litvyakov N. V., 2022

<sup>1</sup> Research Institute of Oncology, Federal State Budgetary Scientific Institution «Tomsk National Research Center for Medicine by the Russian Academy of Sciences», 5, Kooperativny lane, Tomsk, 634009, Russia

<sup>2</sup> The National Research Tomsk State University, TSU, 36, Lenina av., Tomsk, 634050, Russia

<sup>3</sup> Siberian State Medical University, SSMU, 2, Moscow tract, Tomsk, 634050, Russia

✉ Corresponding author: Marina K. Ibragimova. E-mail: imk1805@yandex.ru

ORCID: Matvey M. Tsyganov – <https://orcid.org/0000-0001-7419-4512>; Marina K. Ibragimova – <https://orcid.org/0000-0001-8815-2786>;

Evgeny O. Rodionov – <https://orcid.org/0000-0003-4980-8986>; Anastasia A. Frolova – <https://orcid.org/0000-0003-3297-1680>;

Sergey V. Miller – <https://orcid.org/0000-0002-5365-9840>; Olga V. Cheremisina – <https://orcid.org/0000-0001-7234-4708>; **Sergey A. Tuzikov** – <https://orcid.org/0000-0002-0884-1838>;

Nikolay V. Litvyakov – <https://orcid.org/0000-0002-0714-8927>.

Received: 06.09.2022

Revised: 25.10.2022

Published: 25.11.2022

## Abstract

**Introduction.** To date, one of the reasons for the ineffectiveness of chemotherapy in various malignant neoplasms, including lung cancer, is the formation of the multidrug resistance (MDR) phenotype in tumor cells, which is caused by the expression of ABC transporter genes.

**Aim.** The aim of this work was to assess the expression of ABC-transporter genes during chemotherapy and to analyze the relationship with the effectiveness of chemotherapy and prognosis of the disease.

**Materials and methods.** We used biopsy and surgical material from 91 patients with stage IIB–IIIA non-small cell lung cancer (NSCLC). The treatment regimen included: 2 courses of neoadjuvant chemotherapy (NAC), surgery and 3 courses of adjuvant chemotherapy (ACT) with platinum doublets. RNA was isolated from the samples, followed by quantitative PCR to assess the expression of genes *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2*.

**Results and discussion.** It was shown that the level of expression of the studied genes was not associated with the effect of NAC in patients with lung cancer, except for the *ABCC5* gene, which showed a relationship at the level of a pronounced trend ( $p = 0.07$ ). It was also shown that in the group of patients with an objective response to chemotherapy, the frequency of decreased expression of the *ABCC1* ( $p = 0.01$ ) and *ABCC5* ( $p = 0.004$ ) genes was statistically significantly higher than in the group of patients with stabilization. Further, using the Kaplan – Meier method, it was found that a decrease in expression is associated with high rates of metastatic-free survival (MFS). The highest rates of 5-year MFS (more than 85 %) are observed in patients with a decrease in the expression of the *ABCB1* and *ABCG2* genes, log-rank test  $p = 0.0007$  and  $p = 0.002$ , respectively.

**Conclusion.** Thus, it has been shown that changes in the expression of ABC transporter genes are associated with the effectiveness of chemotherapy and the prognosis of the disease. The data obtained can be used as a basis for the detection of potential drug targets.

**Keywords:** gene expression, non-small cell lung cancer, ABC transporters, disease prognosis, effect of chemotherapy

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Matvey M. Tsyganov, Marina K. Ibragimova, Anastasia A. Frolova wrote the text of the manuscript. Evgeny O. Rodionov, Sergey V. Miller analyzed the data obtained. Olga V. Cheremisina obtained data for analysis. **Sergey A. Tuzikov**, Nikolay V. Litvyakov designed the study.

**Funding.** This work was supported by grant number 20-015-00023 RFBR «Study of the role of human papillomavirus (HPV) in the carcinogenesis of non-small cell lung cancer».

**Compliance with the principles of ethics.** The work performed complies with the ethical standards developed in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association "Ethical principles for conducting scientific medical research involving humans" as amended in 2000 and the "Rules of Clinical Practice in the Russian Federation" approved by the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 19.06.2003 No. 266. Informed consent was obtained from the person participating in the study.

**For citation:** Tsyganov M. M., Ibragimova M. K., Rodionov E. O., Frolova A. A., Miller S. V., Cheremisina O. V., **Tuzikov S. A.**, Litvyakov N. V. Prognostic and predictive significance of mRNA expression of ABC-transporter genes in patients with non-small cell lung cancer. *Drug development & registration*. 2022;11(4):253–260. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-253-260>

## ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день применяемая системная химиотерапия с включением как препаратов платины, так и иных цитотоксических агентов, таких как винорелбин, гемцитабин, таксаны и т. д., является стандартом лечения больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) [1]. Системная химиотерапия может быть использована в неoadъювантном и/или адъювантном режимах. Однако по поводу эффективности химиотерапии при раке легкого существует мнение об относительной химиорезистентности рака легкого по сравнению с другими локализациями.

В исследованиях было установлено, что эффективность применяемой неoadъювантной химиотерапии (НХТ) у больных НМРЛ сильно варьирует [2, 3]. В работе K. Pisters et al. [4] авторы сообщили, что лишь 12 % (9/73) больных, получавших НХТ, достигли полного морфологического ответа, J. A. Roth et al. [5] показал полное отсутствие эффективности НХТ на 28 пациентах, в исследовании R. Rosell et al. [6] всего у 3 % (1/30) больных НМРЛ наблюдался положительный ответ на лечение. В комплексной работе Adjuvant Navelbine International Trialist Association (ANITA) установлено, что применение химиотерапии увеличивало медиану выживаемости пациентов (65,7 месяцев; OR 0,80;

95 % CI 0,66–0,96,  $p = 0,02$ ) [7]. Но с сожалением приходится констатировать, что комбинация стандартных схем химиотерапии практически в полной мере исчерпали свои возможности в плане повышения эффективности, а с учетом того, что данное злокачественное новообразование является весьма гетерогенным в отношении чувствительности к химиотерапии, эффективность применяемого лечения остается сравнительно невысокой [8]. К одной из важных причин неэффективности проводимой химиотерапии при разных злокачественных новообразованиях, в том числе и при раке легкого (РЛ), относят формирование фенотипа множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) у опухолевых клеток как до лечения, так и в процессе химиотерапии [9]. Как правило, эффективность использования химиотерапии для лечения РЛ ограничено индивидуальной чувствительностью опухоли, определяемой соответствием наличия мишеней действия химиопрепаратов, назначенной схемой химиотерапии и развитием неспецифической резистентности опухолевых клеток [10]. Хорошо известно многие противоопухолевые препараты интенсивно метаболизируются в организме посредством различных механизмов, в частности процесса биотрансформации и транспортирования [11], который обусловлен экспрессией генов семейства энергозависимых АВС-транспортеров (ATP-binding cassette transporter), играющих первоочередную роль в развитии МЛУ опухолевых клеток [12]. На модели рака молочной железы (РМЖ) нами было показано, что изменение экспрессии в процессе неoadъювантной химиотерапии (НХТ) некоторых генов АВС-транспортеров (*ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2*) связано с ответом на проводимую химиотерапию у больных РМЖ [9], при этом снижение экспрессии обуславливает формирование объективного ответа на лечение (полная и частичная регрессия), тогда как повышение – отсутствие ответа (прогрессирование и стабилизация опухоли). Таким образом, **целью работы** явилась оценка экспрессии генов АВС-транспортеров в процессе химиотерапии у больных НМРЛ и анализ связи с эффективностью химиотерапии и прогнозом заболевания.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 91 больной НМРЛ IIB–IIIA стадий с морфологически верифицированным диагнозом, которые находились на лечении в клинике НИИ онкологии Томского НИМЦ. Вся научно-исследовательская работа была проведена в соответствии с Хельсинкской декларацией 1964 г. (исправленной в 2013 г.) [13] и с разрешения этического комитета института. Всеми пациентами было подписано информированное согласие на исследование. В схему лечения больных входило: 2 курса нео-

адъювантной химиотерапии по схеме: «Винорелбин» 25 мг/м<sup>2</sup> (1-й и 8-й дни)/«Карбоплатин» АУС 6 (во 2-й день) с интервалом 3 недели и последующей оценкой эффекта. Эффективность НХТ была оценена с помощью шкалы RECIST. После НХТ пациентам проводилась операция в объеме пневмонэктомии или лобэктомии. После проведено 3 курса адъювантной химиотерапии (АХТ) по схемам: «Винорелбин» 25 мг/м<sup>2</sup> (1-й и 8-й дни)/«Карбоплатин» АУС 6 (во 2-й день); «Доксорубин» 50 мг/м<sup>2</sup>/«Карбоплатин» АУС 6 (во 2-й день); «Гемцитабин» 1250 мг/м<sup>2</sup> (1-й, 8-й дни)/«Карбоплатин» АУС 6 (во 2-й день); «Карбоплатин» АУС 6 (во 2-й день)/«Паклитаксел» 175 мг/м<sup>2</sup>. Интервал между курсами химиотерапии составил 3 недели. Основные клинико-патологические параметры, включенных в исследование пациентов, представлены в таблице 1.

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

**Table 1. The main clinical and morphological parameters of the examined patients**

| Клинико-морфологический параметр<br>Clinical and morphological parameter |                                              | Количество<br>больных, абс. ч. (%),<br>(n = 91)<br>Number of patients,<br>abs. hours (%),<br>(n = 91) |
|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Возраст<br>Age                                                           | ≤50 лет<br>≤50 years                         | 17 (19,1)                                                                                             |
|                                                                          | >50 лет<br>>50 years                         | 72 (80,9)                                                                                             |
| Пол<br>Gender                                                            | Мужской<br>Male                              | 78 (87,6)                                                                                             |
|                                                                          | Женский<br>Female                            | 11 (12,4)                                                                                             |
| Размер опухоли<br>Tumor size                                             | T <sub>1</sub>                               | 10 (11,2)                                                                                             |
|                                                                          | T <sub>2</sub>                               | 19 (21,3)                                                                                             |
|                                                                          | T <sub>3</sub>                               | 48 (53,9)                                                                                             |
|                                                                          | T <sub>4</sub>                               | 12 (13,5)                                                                                             |
| Лимфогенное<br>метастазирование<br>Lymphogenic metastasis                | N <sub>0</sub>                               | 27 (30,3)                                                                                             |
|                                                                          | N <sub>1</sub>                               | 35 (39,3)                                                                                             |
|                                                                          | N <sub>2</sub>                               | 25 (28,1)                                                                                             |
|                                                                          | N <sub>3</sub>                               | 2 (2,2)                                                                                               |
| Клинико-анатомическая<br>форма<br>Clinical and anatomical<br>form        | Центральный<br>Central                       | 51 (57,3)                                                                                             |
|                                                                          | Периферический<br>Peripheral                 | 38 (42,7)                                                                                             |
| Гистологический тип<br>Histological type                                 | Плоскоклеточный<br>Squamous                  | 68 (76,4)                                                                                             |
|                                                                          | Аденокарцинома<br>Adenocarcinoma             | 21 (23,6)                                                                                             |
| Эффект НХТ<br>NAC effect                                                 | Полная регрессия<br>Complete<br>regression   | 2 (2,2)                                                                                               |
|                                                                          | Частичная<br>регрессия<br>Partial regression | 47 (52,8)                                                                                             |
|                                                                          | Стабилизация<br>Stabilization                | 40 (44,9)                                                                                             |

| Клинико-морфологический параметр<br>Clinical and morphological parameter |                                                                   | Количество<br>больных, абс. ч. (%),<br>(n = 91)<br>Number of patients,<br>abs. hours (%),<br>(n = 91) |
|--------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Характер операции<br>The type<br>of the operation                        | Пневмонэктомия<br>Pneumonectomy                                   | 48 (53,9)                                                                                             |
|                                                                          | Лобэктомия<br>Lobectomy                                           | 41 (46,1)                                                                                             |
| Схема АХТ<br>ACT scheme                                                  | «Винорелбин»/<br>«Карбоплатин»<br>"Vinorelbine"/<br>"Carboplatin" | 65 (73,0)                                                                                             |
|                                                                          | «Доксорубин»/<br>«Карбоплатин»<br>"Doxorubicin"/<br>"Carboplatin" | 1 (1,1)                                                                                               |
|                                                                          | «Гемцитабин»/<br>«Цисплатин»<br>"Gemcitabine"/<br>"Cisplatin"     | 8 (9,0)                                                                                               |
|                                                                          | «Гемцитабин»/<br>«Карбоплатин»<br>"Gemcitabine"/<br>"Carboplatin" | 6 (6,7)                                                                                               |
|                                                                          | «Иринотекан»/<br>«Цисплатин»<br>"Irinotecan"/<br>"Cisplatin"      | 2 (2,2)                                                                                               |
|                                                                          | «Паклитаксел»/<br>«Цисплатин»<br>"Paclitaxel"/<br>"Cisplatin"     | 1 (1,1)                                                                                               |
|                                                                          | «Паклитаксел»/<br>«Карбоплатин»<br>"Paclitaxel"/<br>"Carboplatin" | 6 (6,7)                                                                                               |
| Гематогенное<br>метастазирование<br>Hematogenous<br>metastasis           | Есть<br>Yes                                                       | 22 (24,7)                                                                                             |
|                                                                          | Нет<br>No                                                         | 67 (75,3)                                                                                             |

Материалом для исследования служили биопсийные (~5–10 мм<sup>3</sup>) и операционные образцы нормальной и опухолевой ткани (~30–60 мм<sup>3</sup>), которые помещали в раствор RNeasy Lysis Buffer (Qiagen, США). После 24-часовой инкубации при +4 °C образцы биоматериала сохраняли при температуре –80 °C.

### Выделение РНК

РНК выделяли с помощью набора RNeasy Plus Mini Kit (Qiagen GmbH, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Концентрация РНК составила от 50 до 200 нг/мкл. Целостность РНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе Agilent 4200 TapeStation (Agilent Technologies, США). RIN составил 6,5–9,0.

### Количественная ПЦР

Уровень экспрессии исследуемых генов ABC-транспортеров: ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCC5, ABCG1, ABCG2 оценивали при помощи количественной об-

ратно-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) по технологии TaqMan® на амплификаторе Rotor-Gene 6000 (Corbett Research Pty Ltd., Австралия). Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора RevertAid™ RT (Thermo Fisher Scientific, США) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией к набору. Оригинальные праймеры и зонды (FAM-BHQ1) были подобраны с использованием программы Vector NTI Advance 11.5 и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pnuccore>). Уровень экспрессии генов измерялся в условных единицах с помощью метода Pfaffl [14].

### Статистические методы

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc., США). Для проверки гипотезы о значимости различий между исследуемыми группами использовали критерий Вилкоксона – Манна – Уитни. Различия между исследуемыми группами считались статистически значимыми при уровне значимости  $p < 0,05$ . Для анализа общей и безметастатической выживаемости использовали кривые выживаемости, построенные по методу Каплана – Майера. Сравнение достоверности различий между группами производилось с помощью log-rank теста. Сравнение частот по качественным данным анализировали при помощи двухстороннего критерия Фишера или по критерию хи-квадрат.

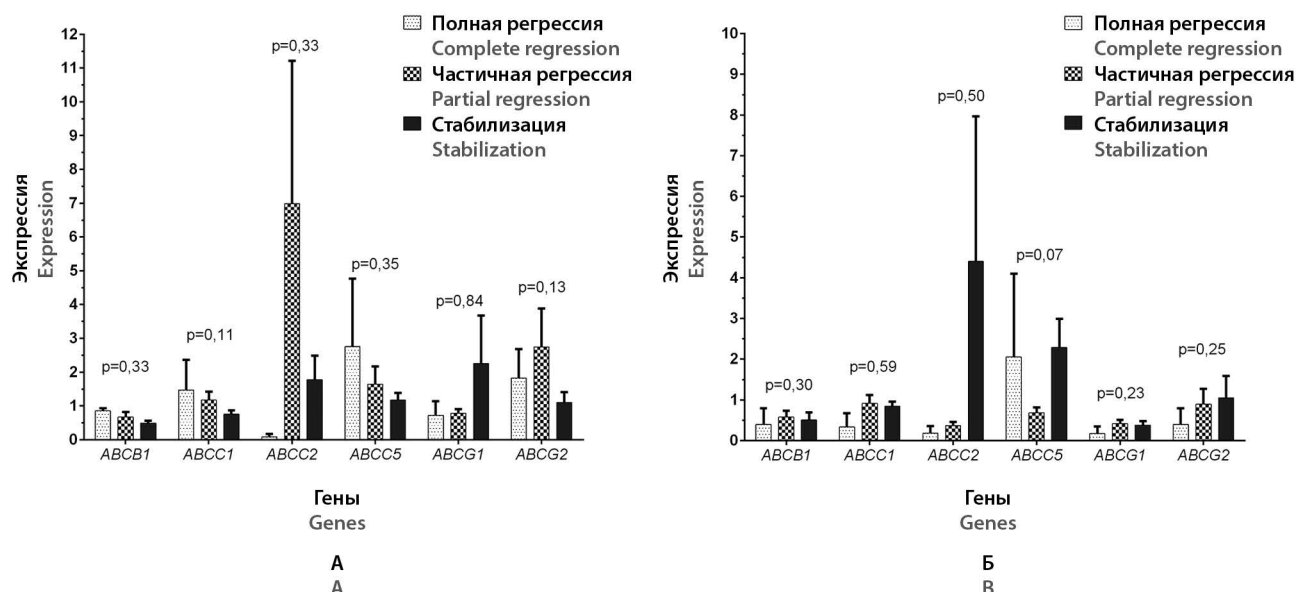
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что уровень экспрессии исследуемых генов (начальный и послеоперационный) не связан с эффектом НХТ у больных раком легкого (рисунок 1).

Лишь для гена ABCC5 установлена связь на уровне выраженной тенденции ( $p = 0,07$ ) с эффектом НХТ. Уровень экспрессии данного гена после лечения выше у пациентов со стабилизацией. Анализ связи экспрессии с показателями безметастатической выживаемости также показал отсутствие значимых различий у пациентов с гипер- и гипоекспрессией исследуемых генов как до, так и после НХТ. Предыдущие наши исследования на раке молочной железы показали, что изменение экспрессии в процессе неоадьювантной химиотерапии (НХТ) связаны с ответом на проводимую химиотерапию, то есть не сам уровень экспрессии, а именно его изменение: снижение или повышение экспрессии. На основании этого мы исследовали частоту повышения и снижения экспрессии генов ABC-транспортеров у больных НМРЛ при разных ответах на неоадьювантную химиотерапию (таблица 2).

В группе больных с частичной и полной регрессией частота снижения экспрессии генов ABCC1 и ABCC5 статистически значимо выше по сравнению с группой пациентов со стабилизацией. Снижение эксп-





**Рисунок 1.** Связь начального (А) и послеоперационного (Б) уровня экспрессии генов ABC-транспортеров с эффектом неоадьювантной химиотерапии

**Figure 1.** Relationship between the initial (A) and postoperative (B) levels of ABC-transporter gene expression with the effect of neoadjuvant chemotherapy

**Таблица 2.** Изменение экспрессии генов ABC-транспортеров у больных НМРЛ в зависимости от эффекта неоадьювантной химиотерапии

**Table 2.** Changes in the expression of ABC-transporter genes in patients with NSCLC, depending on the effect of neoadjuvant chemotherapy

| Гены<br>Genes | НАС-эффект<br>NAC effect                                                                                                                                      |                      |                                           |                      |                               |                      | p-значение<br>p-value |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------------------------------|----------------------|-------------------------------|----------------------|-----------------------|
|               | Полная регрессия<br>Complete regression                                                                                                                       |                      | Частичная регрессия<br>Partial regression |                      | Стабилизация<br>Stabilization |                      |                       |
|               | Частота изменения экспрессии генов ABC-транспортеров [абс. части (%)]<br>The frequency of changes in the expression of ABC-transporter genes [abs. parts (%)] |                      |                                           |                      |                               |                      |                       |
|               | Повышение<br>Increase                                                                                                                                         | Снижение<br>Decrease | Повышение<br>Increase                     | Снижение<br>Decrease | Повышение<br>Increase         | Снижение<br>Decrease |                       |
| ABCB1         | 0 (0,0)                                                                                                                                                       | 2 (100,0)            | 10 (34,5)                                 | 19 (65,5)            | 31 (53,4)                     | 27 (46,6)            | 0,10                  |
| ABCC1         | 0 (0,0)                                                                                                                                                       | 2 (100,0)            | 10 (34,5)                                 | 19 (65,5)            | 36 (62,1)                     | 22 (37,9)            | 0,01                  |
| ABCC2         | 1 (50,0)                                                                                                                                                      | 1 (50,0)             | 10 (34,5)                                 | 19 (65,5)            | 32 (55,2)                     | 26 (44,8)            | 0,19                  |
| ABCC5         | 0 (0,0)                                                                                                                                                       | 2 (100,0)            | 10 (34,5)                                 | 19 (65,5)            | 39 (67,2)                     | 19 (32,8)            | 0,004                 |
| ABCG1         | 0 (0,0)                                                                                                                                                       | 2 (100,0)            | 8 (27,6)                                  | 21 (72,4)            | 20 (34,5)                     | 38 (65,5)            | 0,50                  |
| ABCG2         | 0 (0,0)                                                                                                                                                       | 2 (100,0)            | 11 (37,9)                                 | 18 (62,1)            | 28 (48,3)                     | 30 (51,7)            | 0,29                  |

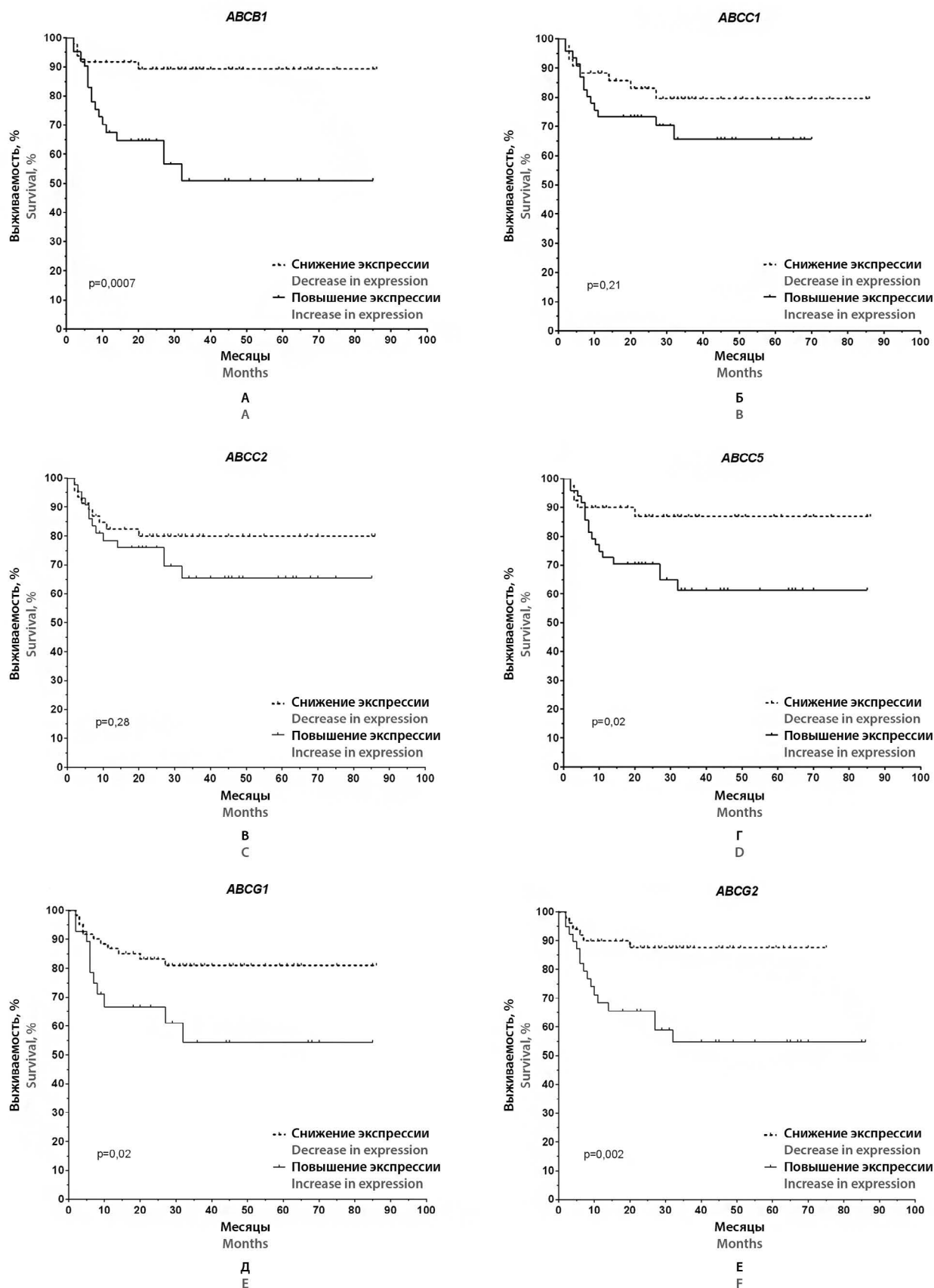
**Примечание.** Жирным шрифтом обозначены статистически значимые различия.

**Note.** Bold indicates statistically significant differences.

рессии данных генов наблюдается у 65,5 % пациентов (19/29 случаев) с объективным ответом на лечение, против 37,9 и 32,8 % пациентов в группе со стабилизацией, соответственно для генов *ABCC1* ( $p = 0,01$ ) и *ABCC5* ( $p = 0,004$ ). Далее была оценена связь безметастатической выживаемости с изменением экспрессии ABC-транспортеров (рисунок 2).

Установлено, что снижение экспрессии связано с более высокими показателями БМВ. Наибольшие показатели 5-летней БМВ наблюдаются у пациентов со снижением экспрессии генов *ABCB1* и *ABCG2* (ри-

сунки 2, А и Б). Данный показатель составляет 90 % против 51 % в группе с повышением экспрессии *ABCB1* (log-rank test  $p = 0,0007$ ) и 88 % против 55 % в группе с повышением экспрессии *ABCG2* (log-rank test  $p = 0,002$ ). Для генов *ABCC1* и *ABCC2* статистически значимых различий в выживаемости показано не было (log-rank test  $p = 0,21$  и  $p = 0,28$  соответственно) (рисунок 1, Б и В). Снижение экспрессии *ABCC5* и *ABCG1* также обуславливает высокие показатели выживаемости (87 % против 62 %, log-rank test  $p = 0,02$  для *ABCC5* и 81 % против 55 %, log-rank test  $p = 0,02$  для *ABCG1*).



**Рисунок 2.** Показатели безметастатической выживаемости больных немелкоклеточным раком легкого в зависимости от изменения экспрессии генов ABC-транспортеров: ABCB1 (А), ABCC1 (Б), ABCC2 (В), ABCC5 (Г), ABCG1 (Д), ABCG2 (Е)

**Figure 2.** Metastatic-free survival rates of patients with non-small cell lung cancer depending on changes in the expression of ABC-transporters: ABCB1 (A), ABCC1 (B), ABCC2 (C), ABCC5 (D), ABCG1 (E), ABCG2 (E)

На сегодняшний день химиотерапия по-прежнему является основным методом лечения пациентов с НМРЛ, а множественная лекарственная устойчивость является одним из наиболее важных факторов, препятствующих положительному исходу лечения, и является частой проблемой в назначении схемы лечения [15].

В мировой литературе имеются единичные публикации о связи изменения экспрессии генов ABC в опухоли легкого с прогнозом заболевания. Важно отметить, что большая часть исследований сосредоточена на поиске ассоциаций непосредственно уровня экспрессии с эффектом лечения и выживаемостью пациентов [16]. Исследования экспрессии генов *ABCC1* и *ABCB1* показали связь с плохим ответом на химиотерапию [17]. Высокий уровень данных генов был обнаружен при возникновении рецидивов [18]. Кроме этого, было показано, что экспрессия *ABCC1* является клинически значимой и может быть независимым предиктивным и прогностическим фактором в отношении клинического исхода у пациентов с раком легкого. Пациенты с высоким уровнем *ABCC1* имели значительно меньшие показатели безрецидивной выживаемости [19].

В работе M. Vesel et al. оценили экспрессию генов *ABCB1* и *ABCG2* в двух разных подтипах НМРЛ (аденокарцинома и плоскоклеточный рак) [20]. Было показано, что при лечении цисплатином происходит повышение экспрессии генов *ABCB1* и *ABCG2*, что сопряжено с неблагоприятным прогнозом заболевания. Кроме этого, другими авторами показано, что наибольший вклад в уменьшение показателей выживаемости (как безрецидивной, так и общей) больных НМРЛ вносит ген *ABCG2*. Высокий уровень его экспрессии ассоциирован с более высокой частотой рецидивирования и метастазирования (130 больных) [21].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, было установлено, что изменение экспрессии некоторых генов ABC-транспортёров сопряжено с более высокими показателями безметастатической выживаемости, а также с эффектом неoadъювантной химиотерапии. 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. Данные результаты свидетельствуют о перспективе использования данных прогностических методов в назначении персонализированных схем лечения химиотерапии больным НМРЛ.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Duma N., Santana-Davila R., Molina J.R. Non-small cell lung cancer: epidemiology, screening, diagnosis, and treatment. *Mayo Clinic Proceedings*. 2019;94(8):1623–1640. DOI: 10.1016/j.mayocp.2019.01.013.
2. Brandt W. S., Yan W., Zhou J., Tan K. S., Montecalvo J., Park B. J., Adusumilli P. S., Huang J., Bott M. J., Rusch V. W., Molena D., Travis W. D., Kris M. G., Chaft J. E., Jones D. R. Outcomes after neoadjuvant or adjuvant chemotherapy for cT2-4N0-1 non-small cell lung cancer: a propensity-matched analysis. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2019;157(2):743–753. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2018.09.098.
3. Maclean M., Luo X., Wang S., Kernstine K., Gerber D. E., Xie Y. Outcomes of neoadjuvant and adjuvant chemotherapy in stage 2 and 3 non-small cell lung cancer: an analysis of the National Cancer Database. *Oncotarget*. 2018;9(36):24470–24479. DOI: 10.18632/oncotarget.25327.
4. Pisters K., Kris M. G., Gralla R. J., Zaman M. B., Heelan R. T., Martini N. 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. *Journal of Clinical Oncology*. 1993;11(9):1757–1762. DOI: 10.1200/JCO.1993.11.9.1757.
5. Roth J. A., Fossella F., Komaki R., Ryan M. B., Putnam Jr. J., Lee J. S., Dhingra H., De Caro L., Chasen M., McGavran M., Atkinson E. N., Hong W. K. A randomized trial comparing perioperative chemotherapy and surgery with surgery alone in resectable stage IIIA non-small-cell lung cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 1994;86(9):673–680. DOI: 10.1093/jnci/86.9.673.
6. Rosell R., Gomez-Codina J., Camps C., Maestre J., Padille J., Cantó A., Mate J. L., Li S., Roig J., Olazabal A., Canela M., Ariza A., Skacel Z., Morera-Prat J., Abad A. A randomized trial comparing preoperative chemotherapy plus surgery with surgery alone in patients with non-small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*. 1994;330(3):153–158. DOI: 10.1056/NEJM199401203300301.
7. Douillard J.-Y., Rosell R., De Lena M., Carpagnano F., Ramlau R., González-Larriba J. L., Grodzki T., Pereira J. R., Le Groumellec A., Lorusso V., Clary C., Torres A. J., Dahabreh J., Souquet P.-J., Astudillo J., Fournel P., Artal-Cortes A., Jassem J., Koubkova L., His P., Riggi M., Hurteloup P. 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. *The lancet oncology*. 2006;7(9):719–727. DOI: 10.1016/S1470-2045(06)70804-X.
8. Pirker R., Filipits M. Adjuvant therapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer: current status and perspectives. *Clinical lung cancer*. 2019;20(1):1–6. DOI: 10.1016/j.clcl.2018.09.016.
9. Litviakov N. V., Cherdynseva N. V., Tsyganov M. M., Denisov E. V., Garbukov E. Y., Merzliakova M. K., Volkomorov V. V., Vtorushin S. V., Zavyalova M. V., Slonimskaya E. M., Perelmutter V. M. Changing the expression vector of multidrug resistance genes is related to neoadjuvant chemotherapy response. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 2013;71(1):153–163. DOI: 10.1007/s00280-012-1992-x.
10. Slonimskaya E. M., Kazantseva P. V., Litviakov N. V., Tsyganov M. M., Ibragimova M. K., Doroshenko A. V., Vernadsky R. U., Vostrikova M. A., Lushnikova N. A. Experience of personalized appointment of neoadjuvant chemotherapy for patient with breast cancer: a prospective study. *Farmateka*. 2018;7:64–70. (In Russ.)
11. Đanić M., Mikov M. Biotransformation of Xenobiotics in Living Systems—Metabolism of Drugs: Partnership of Liver and Gut Microflora. *Pharmaceutical Biocatalysis*. 2020;1(1):129–166.
12. Vtorushin S., Khristenko K., Zavyalova M., Perelmutter V., Litviakov N., Denisov E., Dulesova A., Cherdynseva N. The phenomenon of multi-drug resistance in the treatment of malignant tumors. *Experimental Oncology*. 2014;36(3):144–156.
13. Schwartz G. F., Hortobagyi G. N. Proceedings of the consensus conference on neoadjuvant chemotherapy in carcinoma of the breast, April 26–28, 2003, Philadelphia, Pennsylvania. *Cancer*. 2004;100(4):2512–2532. DOI: 10.1002/cncr.20298.

14. Pfaffl M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic acids research*. 2001;29(9):e45. DOI: 10.1093/nar/29.9.e45.
15. Robey R. W., Pluchino K. M., Hall M. D., Fojo A. T., Bates S. E., Gottesman M. M. Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2018;18(7):452–464. DOI: 10.1038/s41568-018-0005-8.
16. Fung S. W., Cheung P. F.-Y., Yip C. W., Ng L. W.-C., Cheung T. T., Chong C. C.-N., Lee C., Bo-San Lai P., Chan A. W.-H., Tsao G. S.-W., Wong C.-H., Chan S. L., Lo K. W., Cheung S. T. The ATP-binding cassette transporter ABCF1 is a hepatic oncofetal protein that promotes chemoresistance, EMT and cancer stemness in hepatocellular carcinoma. *Cancer letters*. 2019;457:98–109. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.05.010.
17. Bruckmueller H., Cascorbi I. ABCB1, ABCG2, ABCC1, ABCC2, and ABCC3 drug transporter polymorphisms and their impact on drug bioavailability: what is our current understanding? *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*. 2021;17(4):369–396. DOI: 10.1080/17425255.2021.1876661.
18. Zawadzka I., Jeleń A., Pietrzak J., Żebrowska-Nawrocka M., Michalska K., Szmajda-Krygier D., Mirowski M., Łochowski M., Kozak J., Balcerzak E. The impact of ABCB1 gene polymorphism and its expression on non-small-cell lung cancer development, progression and therapy – preliminary report. *Scientific reports*. 2020;10(1). DOI: 10.1038/s41598-020-63265-4.
19. Yao S., Sucheston L. E., Zhao H., Barlow W. E., Zirpoli G., Liu S., Moore H. C. F., Budd G. T., Hershman D. L., Davis W. Ciupak G. L., Stewart J. A., Isaacs C., Hobday T. J., Salim M., Hortobagyi G. N., Gralow J. R., Livingston R. B., Albain K. S., Hayes D. F., Ambrosone C. B. 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. *The pharmacogenomics journal*. 2014;14(3):241–247. DOI: 10.1038/tpj.2013.32.
20. Vesel M., Rapp J., Feller D., Kiss E., Jaromi L., Meggyes M., Miskei G., Duga B., Smuk G., Laszlo T., Karner I., Pongracz J. E. ABCB1 and ABCG2 drug transporters are differentially expressed in non-small cell lung cancers (NSCLC) and expression is modified by cisplatin treatment via altered Wnt signaling. *Respiratory research*. 2017;18(1). DOI: 10.1186/s12931-017-0537-6.
21. Han J.-Y., Lim H.-S., Yoo Y.-K., Shin E. S., Park Y. H., Lee S. Y., Lee J.-E., Lee D. H., Kim H. T., Lee J. S., Associations of ABCB1, ABCC2, and ABCG2 polymorphisms with irinotecan-pharmacokinetics and clinical outcome in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Cancer*. 2007;110(1):138–147. DOI: 10.1002/cncr.22760.