

УДК 616.33-006.6-089.87]:575.191(476)

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОЦЕНКИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

Р. М. СМОЛЯКОВА¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет,
Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, Минск, Беларусь

Проанализирована экспрессия генов *TYMS*, *TYMP*, *ERCC1*, *OPRT* и *DPD*, характеризующая лекарственную чувствительность к препаратам платины и фторпиримидинового ряда у пациентов, страдающих колоректальным раком. Комплексная молекулярно-генетическая оценка уровней экспрессии генов метаболизма 5-фторурацила *TYMS* и *TYMP* позволяет стратифицировать пациентов в группу с высокой химиорезистентностью и риском прогрессирования заболевания с целью выбора второй линии адъювантной цитостатической терапии. Установлена достоверная связь между уровнями экспрессии генов *TYMP*, *OPRT*, *DPD* и степенью распространенности опухолевого процесса, наличием метастазов при колоректальном раке. Экспрессии генов *TYMS*, *TYMP* и *OPRT* коррелируют с риском развития рецидива заболевания, химиоустойчивостью, неблагоприятным прогнозом и снижением общей выживаемости пациентов, страдающих колоректальным раком.

Ключевые слова: колоректальный рак; экспрессия генов; химиочувствительность; рецидив; полихимиотерапия; прогноз; полимеразная цепная реакция; стратификация.

THE PREDICTIVE VALUE OF THE ASSESSMENT OF MEDICINAL SENSITIVITY IN COLORECTAL CANCER

R. M. SMALYAKOVA

Belarusian State University,
International Sakharov Environmental Institute,
Dolgobrodskaya 23/1, 220070, Minsk, Belarus

The expression of *TYMS*, *TYMP*, *ERCC1*, *OPRT* and *DPD* genes, which characterizes medicinal sensitivity to platinum and fluoropyrimidine medicines in patients with colorectal cancer, is analyzed. A complex molecular genetic assessment of the expression levels of the *TYMS* and *TYMP* 5-fluorouracil metabolism genes allows patients to be stratified into a group with high chemoresistance and the risk of disease progression in order to select a second-line adjuvant cytostatic therapy. A significant correlation was established between the levels of *TYMP*, *OPRT*, *DPD* gene expression and the extent of the tumor process, the presence of metastases in colorectal cancer. The expression of the *TYMS*, *TYMP* and *OPRT* genes correlates with the risk of disease relapse, chemotherapy, poor prognosis and reduced overall survival of patients with colorectal cancer.

Key words: colorectal cancer; gene expression; chemosensitivity; relapse; polychemotherapy; prognosis; polymerase chain reaction; stratification.

Образец цитирования:

Смолякова Р. М. Прогностическая значимость оценки лекарственной чувствительности при колоректальном раке // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 4. С. 101–108.

For citation:

Smalyakova R. M. The predictive value of the assessment of medicinal sensitivity in colorectal cancer. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 4. P. 101–108 (in Russ.).

Авторы:

Раиса Михайловна Смолякова – доктор биологических наук, доцент; заведующий кафедрой общей экологии, биологии и экологической генетики.

Authors:

Raisa M. Smalyakova, doctor of science (biology), associate professor, head of the department of general ecology, biology and ecological genetics.
smol60@mail.ru

Введение

Рак толстой кишки занимает одно из ведущих мест в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями во всех странах мира. Риск развития рака толстой кишки (РТК) в возрастной группе старше 50 лет возрастает в два раза в течение каждого последующего десятилетия и достигает пика к 75 годам. Отмечается резкий рост заболеваемости и смертности от колоректального рака (КРР) в возрастных группах до 34 лет и 45–49 лет, особенно в странах Европы, США и Канаде [1]. В 30 % случаев опухоль выявляется во второй стадии, в 60–70 % – в третьей.

В Республике Беларусь, как и во многих странах Европы и Северной Америки, заболеваемость КРР в последние годы неуклонно возрастает. В течение последних десяти лет число ежегодно выявляемых пациентов с КРР в республике увеличилось в 1,3 раза.

Пятилетняя выживаемость при КРР достигает 60 % в развитых странах и менее 40 % в государствах с ограниченными ресурсами. Важнейшим фактором, влияющим на 5-летнюю выживаемость, является степень распространения опухолевого процесса. У пациентов 5-летняя выживаемость при выявлении метастазов в регионарных лимфатических узлах составляет около 40 %, без поражения – 75 %, при прорастании серозной оболочки и без прорастания – 42 % и 98 % соответственно [2].

Этиология колоректального рака до настоящего времени остается до конца не выясненной. Однако известно, что трансформация клеток и возникновение КРР вызываются динамическими изменениями клеточного генома, связанными как с герминальными, так и с соматическими мутациями. Стремительное развитие геномики и внедрение фундаментальных знаний в прикладную онкологию позволили достичь нового понимания патогенеза заболевания, предоставить возможность разработки эффективных способов первичной профилактики, улучшить результаты диагностики, а также индивидуализировать тактику лечения и прогнозирования течения заболевания.

Методами молекулярного и цитогенетического анализа показано, что опухолевая трансформация клеток происходит в результате комплекса aberrаций, к которым могут относиться как аномалии числа хромосом, так и качественные нарушения в генах. Анализ мутационных нарушений и последующих изменений в транскрипционной программе клетки составляет основу молекулярной диагностики онкологических заболеваний, которая является областью для научных исследований, а также играет важную роль в клинической практике [3].

Выявление специфических генетических нарушений при колоректальном раке необходимо для выбора патогенетически обоснованной противоопухолевой терапии. Использование молекулярно-генетического анализа, характеризующего различные этапы канцерогенеза при колоректальном раке, является важным звеном доказательной диагностики, повышающем выявляемость опухолей на ранних стадиях развития, обоснованным подходом к назначению цитостатической терапии и увеличением бессобытийной и общей выживаемости. В связи с этим изучение молекулярно-генетических маркеров чувствительности к используемым химиотерапевтическим средствам представляется актуальным для индивидуализации подходов к лечению онкологических пациентов [4; 5].

Основным препаратом выбора при лечении пациентов, страдающих колоректальным раком, являются препараты фторпиримидинового ряда, в частности, 5-фторурацил (5-Fu) и ингибиторы топоизомеразы (препараты платины) [6].

Главной молекулярной мишенью препаратов фторпиримидинового ряда является фермент тимидилатсинтаза (TYMS, thymidylate synthase). Тимидилатсинтаза – ключевой фермент, участвующий в процессе метилирования флуородеоксиуридина до дезоксиуридин-монофосфата, один из основных в процессе синтеза ДНК. Механизм противоопухолевого действия 5-фторурацила связан с угнетением фермента тимидилатсинтазы. Активный метаболит 5-Fu, 5-фтор-2'-дезоксиуридин-монофосфат (FdUMP) взаимодействует с TYMS в присутствии кофактора 5,10-метилентетрагидрофолата (CH₂FH₄) [7], образуя тройной комплекс, что приводит к блокированию *de novo* синтеза дезокситимидин-монофосфата, являющегося одним из предшественников ДНК. В результате биохимических процессов прекращается синтез новых молекул ДНК в ядре опухолевой клетки, что приводит к ее гибели.

Частота химиочувствительных опухолей толстой кишки с низким значением TYMS составляет около 15–20 %. Отдельными исследованиями установлено, что у пациентов с колоректальным раком высокий уровень экспрессии гена TYMS связан с неблагоприятным прогнозом и низким ответом на терапию 5-Fu [8]. Показано, что объективный ответ, время до прогрессирования заболевания и общая выживаемость пациентов выше при низком уровне TYMS. Считается, что эффективность 5-Fu у пациентов с низким уровнем этого фермента в 3 раза выше по сравнению с пациентами при высоком уровне экспрессии TYMS. Уровень экспрессии данного гена может рассматриваться как молекулярный маркер, прогнозирующий эффективность терапии фторпиримидинами у пациентов, страдающих колоректальным раком [9].

Вместе с тем имеющиеся в современной мировой литературе отдельные данные по поводу значимости *TYMS* как маркера чувствительности к химиотерапии фторпиримидинами неоднозначны: не у всех пациентов с низким уровнем экспрессии *TYMS* отмечается выраженный терапевтический ответ. Важно отметить, что уровень экспрессии гена *TYMS* в первичной и метастатической опухолях не одинаков. Подобное противоречие принято объяснять фундаментальными биологическими различиями между сформировавшимся макроскопическим метастатическим очагом и единичными опухолевыми клетками. Следовательно, при выборе тактики лечения распространенных форм опухоли обоснованы необходимо проводить молекулярно-генетический анализ метастатической ткани. Доказано, что уровень экспрессии *TYMS* может увеличиваться в процессе лечения фторпиримидинами. Предполагается, что активация транскрипции гена *TYMS* является одним из механизмов приобретенной вторичной устойчивости к 5-Fu [10].

Проведенный анализ современной мировой литературы свидетельствует, что при оценке химиоустойчивости опухоли к лекарственной терапии с использованием фторпиримидинов при КРР, принципиально важным является комплексное определение уровней экспрессии генов-ферментов метаболизма 5-Fu тимидилатсинтазы и тимидилатфосфорилазы (*TYMP*, thymidylatephosphorylase) [11].

Тимидилатфосфорилаза не только участвует в метаболизме азотистых оснований ДНК, но и способствует процессам ангиогенеза. Его экспрессия повышена в большинстве опухолей и коррелирует с неблагоприятным прогнозом и низким ответом на стандартную химиотерапию с применением 5-Fu. Однако, согласно отдельным данным, высокая экспрессия *TYMP* может коррелировать с чувствительностью опухоли к пероральным фторпиримидинам, в частности, к капецитабину. Таким образом, высокая внутриопухолевая активность *TYMP* связана с прогрессированием заболевания, а с другой стороны, с избирательностью действия пероральных форм фторпиримидинов [12].

На основе достижений фундаментальной науки в настоящее время разработаны принципиально новые препараты, обладающие противоопухолевой активностью. К ним относятся непрямые ингибиторы тимидилатсинтазы, например, ралтитриксид (томудекс), ингибиторы топоизомеразы (препараты платины), а также дериваты камптотецинов СРТ-11 (иринотекан, кампто) и топотекана. В связи с этим фундаментальный и прикладной интерес вызывают молекулярно-генетические aberrации, которые могут приводить к нарушению метаболизма цитостатических и мишень-направленных (таргетных) препаратов.

Так, низкий внутриопухолевый уровень ключевого фермента инактивации 5-фторурацила – дигидропиримидин-дегидрогеназы (*DPD*, dihydropyrimidine dehydrogenase) свидетельствует о чувствительности опухоли к данному препарату. Однако установлено, что у 0,5 % популяции населения наблюдается наследственный дефект данного гена и назначение стандартных терапевтических доз фторпиримидинов сопровождается тяжелейшими осложнениями. Следует отметить, что экспрессия фермента *DPD* может снижаться в процессе злокачественной трансформации, что создает определенное «терапевтическое окно» для действия фторурацила и его производных [13].

Доказано, что в активации фторпиримидинов принимает участие фермент оротатфосфорибозилтрансфераза (*OPRT*, orotate phosphoribosyltransferase), его внутриопухолевая активация ассоциирована с повышением эффективности терапии 5-Fu у пациентов с колоректальным раком. Комплексность метаболизма 5-Fu дает основание предположить, что эффективность его применения зависит от комбинации функциональных характеристик нескольких ферментативных каскадов [14].

Механизм действия производных платины связан с нарушением функции нитей ДНК и образованием внутри- и межспиральных сшивок, что сопровождается нарушением структуры и подавлением синтеза ДНК. Среди механизмов устойчивости к платиновым производным наиболее значимыми маркерами являются *NER* (фермент нуклеотидной эксцизионной репарации) и *ERCC1* [15]. Функция *ERCC1* связана с разрезанием повреждений ДНК 5'-концевой цепи, вызванных препаратами платины [16].

Многочисленные исследования демонстрируют взаимосвязь между низким уровнем экспрессии *ERCC1* и ответом опухоли на цисплатин, карбоплатин или оксалиплатин. Подобная закономерность была отмечена для ряда карцином, включая рак пищевода, желудка, толстой кишки, яичников, легкого [17]. Таким образом, можно предположить, что уровень экспрессии этого фермента является предиктивным маркером чувствительности опухоли к химиотерапии первой линии на основе платины.

Материалы и методы исследования

Материалом исследования послужили 50 пациентов, страдающих раком толстой кишки I–III стадии, получивших полное диагностическое обследование и специальное лечение в РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александро́ва. У всех пациентов, включенных в исследование, диагноз подтвержден морфологически. Пациентами дано информированное согласие на участие в настоящем исследовании.

Возраст пациентов, включенных в исследование, варьировал от 45 до 83 лет. Средний возраст составил $66,0 \pm 9,18$ года.

По степени распространенности опухолевого процесса диагностирована I стадия у 6 % пациентов, II ст. – у 72 %, III ст. – у 22 %.

В анализируемой группе пациентов выявлена высокодифференцированная аденокарцинома в 13 % случаев, умеренно дифференцированная – в 66 %, низкодифференцированная – в 21 %.

В зависимости от локализации опухолевого процесса установлено, что опухоль выявлена в сигмовидной кишке у 25 % пациентов, ректосигмоидном соединении – у 39 %, слепой кишке – у 17 %, восходящей ободочной кишке – 8 %. Аденокарцинома диагностирована в печеночном и селезеночном изгибах ободочной кишки, а также в нисходящей и поперечной ободочной кишке в 4 % случаев. В прямой кишке опухолевый процесс наблюдался у 7 % пациентов.

В исследуемой группе пациентов метастазы диагностированы у 16 %, метастазов не выявлено – в 84 %.

Определение экспрессии изучаемых генов *TYMS*, *TYMP*, *ERCC1*, *OPRT* и *DPD* проводили в опухолевой ткани, забранной во время хирургического лечения, с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на амплификаторе «iCycler» (BioRad, США).

В качестве исследуемого биологического материала использовали опухолевую, а также морфологически нормальную ткань толстой кишки. Непосредственно после иссечения и осмотра опухолевой и нормальной ткани патологоанатомом ее помещали в жидкий азот для транспортировки. Хранение биоматериала осуществляли при температуре минус 70–80 °С в низкотемпературном морозильном шкафу. Для проведения анализа использовали 4 среза опухолевой ткани и один срез морфологически нормальной ткани.

Для выделения общей фракции РНК из ткани использовали набор реагентов «RNAqueous-4PCR Kit» (Ambion, США) согласно инструкции производителя.

Для получения кДНК использовали 500–1000 нг общей фракции РНК с применением набора для обратной транскрипции High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Ambion, США) по инструкции производителя в амплификаторе «iCycler».

Полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени проводили с использованием набора для амплификации кДНК генов *TYMS*, *TYMP*, *ERCC1*, *OPRT* и *DPD* в формате TaqMan (табл. 1).

Таблица 1

Последовательность праймеров и зондов для анализа уровня экспрессии генов *ERCC1*, *OPRT*, *TYMS*, *TYMP* и *DPD*

Table 1

The sequence of primers and probes for analyzing the level of *ERCC1*, *OPRT*, *TYMS*, *TYMP* and *DPD* genes expression

№ п/п	Ген	Прямой праймер	Обратный праймер	Проба
1	<i>OPRT</i>	TCCTGGGCAGATCTA GTAAATGC	TGCTCCTCAGCCA TTCTAACC	6FAM-5'-CTCCTTATTG CGGAAATGAGCTC- CACC-3'TAMRA
2	<i>TYMS</i>	GGCCTCGGTGTGCCTTT	GATGTGCGCAATTC ATGTACGT	6FAM 5'-AACATCGCCAGCTA CGCCCTGC-3'TAMRA
3	<i>TYMP</i>	CCTGCGGACGGAATCCT	TCCACGAGTTTCTTACT GAGAATGG	6FAM5'-CAGCCAGAGATGTG ACAGCCACCG-3'TAMRA
4	<i>DPD</i>	TCACTGGCAGACTCGA GACTGT	TGGCCGAAGTGGAACACA	6FAM5'- CCGCCGACTCCTTACTGAGC ACACAGG-3'TAMRA
5	<i>ERCC1</i>	GGCGACGTAATT CCCGACTA	AGTTCTTCCCCAGGCTCTGC	6FAM5'-ACCACAACCTGCAC CCAGACTACATCCA-3'TAMRA

ПЦР-анализ выполняли на амплификаторе «iCycler» (BioRad, США) со считыванием флуоресценции по каналу FAM в соответствии с программой термоциклирования для набора реагентов Maxima Hot Start DNA polymerase kit (Fermentas, Литва) (50 °С – 2 мин (1 цикл); 95 °С – 5 мин (1 цикл); 95 °С – 10 с (45 циклов); 60 °С – 1 мин.).

Вычисляли значения 2^{-ddCp} . Уровень экспрессии гена считали повышенным при значении 2^{-ddCp} , превышающего $2^{-CT. ОТКЛ. dCp(норма)}$ и пониженным – при значении 2^{-ddCp} , ниже $2^{-CT. ОТКЛ. dCp(норма)}$ (табл. 2).

Таблица 2

Критерии оценки уровня экспрессии генов *TYMS*, *TYMP*, *ERCC1*, *OPRT*, *DPD* у пациентов, страдающих КРР

Table 2

Criteria for assessing the expression level of *TYMS*, *TYMP*, *ERCC1*, *OPRT*, *DPD* genes in patients with CRC

Уровень экспрессии	<i>TYMS</i>	<i>TYMP</i>	<i>ERCC1</i>	<i>OPRT</i>	<i>DPD</i>
Гипоэкспрессия	<0,6	<0,15	<0,15	<0,02	<0,10
Умеренная экспрессия	0,6–1,81	0,15–6,78	0,15–6,62	0,02–4,31	0,10–9,82
Гиперэкспрессия	>1,81	>6,78	>6,62	>44,31	>9,82

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием программы Statistica 6,0. Для сравнения уровней экспрессии генов у пациентов с колоректальным раком применялся непараметрический метод – критерий Манна–Уитни (U , $p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ выполненных исследований свидетельствуют, что экспрессии гена *TYMS* у пациентов с КРР варьировала от 0,03 до 8,23 отн. ед. Так, при I ст. заболевания он составил 1,82 отн. ед., II ст. – 1,54 отн. ед., III ст. – 2,01 отн. ед.

Особо следует отметить, что у пациентов с рецидивом заболевания диагностирована гиперэкспрессия гена *TYMS* в 83,4 % случаев, без рецидива заболевания отмечена умеренная экспрессия у 47,6 % пациентов.

Проведенными динамическими исследованиями установлено, что экспрессия гена фермента *TYMP* у пациентов, страдающих КРР, колебалась в пределах от 0,02 до 16,56 отн. ед. При I ст. заболевания уровень экспрессии гена составил 6,90 отн. ед., II ст. – 2,1 отн. ед., III ст. – 0,94 отн. ед. Прогрессирование заболевания у пациентов с КРР характеризовалось умеренным уровнем экспрессии гена *TYMP* у 66,8 %, без прогрессирования процесса отмечена умеренная экспрессия фермента у 47,6 %.

Анализ проведенных исследований экспрессии гена *ERCC1* установил вариацию его значений от 0,01 до 20,25 отн. ед. У пациентов с колоректальным раком уровень экспрессии составил при I ст. 3,13 отн. ед., II ст. – 3,39 отн. ед., III ст. – 2,33 отн. ед. У пациентов с диагностированным возвратом заболевания экспрессия гена *ERCC1* характеризовалась относительным ее понижением у 66,7 % пациентов, при благоприятном течении заболевания – умеренным уровнем экспрессии в 38,1 % случаев.

Молекулярно-генетический анализ экспрессии гена *OPRT* у пациентов, страдающих КРР, выявил его изменение от 0,01 до 12,3 отн. ед. Сравнительные исследования показали, что при локализованном опухолевом процессе уровень экспрессии исследуемого гена составил при I ст. 5,3 отн. ед., II ст. – 2,67 отн. ед., III ст. – 0,29 отн. ед. У всех пациентов с эффективно проведенным лечением диагностирована умеренная экспрессия гена *OPRT*, при развитии рецидива заболевания гипоэкспрессия фермента установлена в 50 % случаях.

Результаты выполненной работы позволили определить у пациентов, страдающих раком толстой кишки, экспрессию гена *DPD* в пределах от 0,05 до 14,64 отн. ед. У пациентов с КРР уровень экспрессии при I ст. составил 2,7 отн. ед., II ст. – 2,96 отн. ед., III ст. – 1,45 отн. ед. Проведенный в сравнительном аспекте анализ не выявил различий в экспрессии гена *DPD* у пациентов с рецидивом заболевания и не имеющих возврата болезни.

Изучение взаимосвязи уровней экспрессии генов *TYMS*, *TYMP*, *OPRT*, *ERCC1*, *DPD* с морфологическими показателями опухолевого процесса (степень дифференцировки опухоли, распространенность опухолевого процесса и количество пораженных лимфоузлов) выявил статистически значимую связь между уровнем экспрессии гена *TYMP* и степенью распространенности опухолевого процесса ($R = -0,407$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$), уровнями экспрессии генов *OPRT*, *DPD* и степенью распространенности опухолевого процесса ($R = -0,454$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$ и $R = -0,408$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$ соответственно), наличием метастазов ($R = -0,404$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$ и $R = -0,488$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$ соответственно).

Проведенный статистический анализ взаимосвязи уровня экспрессии генов *TYMS*, *TYMP*, *OPRT*, *ERCC1*, *DPD* и риска развития рецидива заболевания у пациентов, страдающих КРР, выявил статистически значимую связь между гиперэкспрессией гена *TYMS* ($R = 0,433$, $p < 0,05$) и низкой экспрессией гена *OPRT* ($R = 0,662$, $p < 0,05$) (табл. 3).

Таблица 3

Корреляционные взаимосвязи между уровнем экспрессии генов и риском развития рецидива заболевания

Table 3

The correlation between the level of gene expression and the risk of disease relapse

Ген	Уровень экспрессии	Рецидив заболевания
<i>TYMS</i>	выс.	$R = 0,433, p < 0,05$
	низк.	$R = -0,071, p >$
<i>TYMP</i>	выс.	$R = 0,028, p >$
	низк.	$R = -0,152, p >$
<i>ERCC1</i>	выс.	$R = -0,221, p >$
	низк.	$R = 0,662, p >$
<i>OPRT</i>	выс.	$R = -0,254, p >$
	низк.	$R = 0,662, p < 0,05$
<i>DPD</i>	выс.	$R = -0,071, p >$
	низк.	$R = 0,203, p >$

Изучение молекулярно-генетического профиля аденокарцином толстой кишки и риска развития рецидива заболевания установило статистически значимую связь между гиперэкспрессией гена *TYMS*, гипо/умеренной экспрессией гена *TYMP* ($R = 0,786, p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$); гиперэкспрессией гена *TYMS*, гипо/умеренной экспрессией гена *TYMP*, гипо/умеренной экспрессией гена *OPRT* ($R = 0,785, p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$) и возвратом заболевания (табл. 4).

Таблица 4

Корреляционные взаимосвязи между профилем экспрессии генов и риском развития рецидива заболевания

Table 4

Correlations between gene expression profile and risk of disease relapse

Профиль экспрессии генов	Рецидив заболевания
<i>TYMS</i> (выс.) <i>TYMP</i> (норм.)	$R = 0,662, p < 0,05$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>TYMP</i> (норм.)/(низк.)	$R = 0,786, p < 0,05$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>TYMP</i> (низк.)/(норм.) <i>OPRT</i> (низк.)	$R = 0,661, p < 0,05$
(<i>TYMS</i> выс.) <i>TYMP</i> (низк.)/(норм.) <i>OPRT</i> (низк.)/(норм.)	$R = 0,785, p < 0,05$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>TYMP</i> (низк.)/(норм.) <i>DPD</i> (выс.)	$R = -0,367, p >$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>TYMP</i> (низк.)/(норм.) <i>OPRT</i> (норм.)	$R = -0,367, p >$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>TYMP</i> (низк.)/(норм.) <i>ERCC1</i> (норм.)	$R = 0,529, p < 0,05$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>OPRT</i> (норм.)/(низк.)	$R = 0,566, p < 0,05$
<i>ERCC1</i> (норм.)/(низк.) <i>OPRT</i> (норм.)/(низк.)	$R = 1,0, p < 0,05$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>TYMP</i> (низк.)/(норм.) <i>ERCC1</i> (норм.)/(низк.)	$R = 0,786, p < 0,05$
<i>TYMS</i> (выс.) <i>ERCC1</i> (низк.)	$R = 0,529, p < 0,05$

Таким образом, профили экспрессии генов *TYMS* (выс.), *TYMP* (низк.)/(норм.) и *TYMS* (выс.), *TYMP* (низк.)/(норм.), *OPRT* (низк.)/(норм.) могут служить маркерами риска развития рецидива заболевания и химиоустойчивости опухоли к препаратам фторпиримидинового ряда у пациентов, страдающих колоректальным раком.

Анализ молекулярно-генетических исследований установил, что у пациентов с рецидивом заболевания и неблагоприятным прогнозом детектирована гиперэкспрессия гена *TYMS*, умеренная экспрессия гена *TYMP*, *OPRT*, *DPD* и гипоекспрессия гена *ERCC1*. Эффективно проведенная комбинированная терапия у пациентов без возврата заболевания характеризовалась умеренной экспрессией генов *TYMS*, *TYMP*, *ERCC1*, *DPD*, умеренной и гипоекспрессией гена *OPRT*.

Заключение

Таким образом, у пациентов, страдающих колоректальным раком I–III ст., определена экспрессия генов *TYMS*, *TYMP*, *OPRT*, *ERCC1*, *DPD*, характеризующих лекарственную устойчивость к препаратам платины и фторпиримидинового ряда. Комплексная оценка экспрессии генов метаболизма 5-фторурацила *TYMS* со значением выше 1,0 отн. ед. и гена *TYMP* при значении ниже 10,0 отн. ед. позволяет стратифицировать пациентов в группу с высокой химиорезистентностью и риском прогрессирования заболевания с целью выбора второй линии адъювантной цитостатической терапии.

Установлена статистически значимая связь между уровнями экспрессии генов *TYMP* ($R = -0,407$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$), *OPRT* ($R = -0,454$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$), *DPD* ($R = -0,408$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$) и степенью распространенности опухолевого процесса, наличием метастазов ($R = -0,404$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$ и $R = -0,488$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$ соответственно) при колоректальном раке.

Гиперэкспрессия гена *TYMS*, гипо/умеренная экспрессия гена *TYMP* ($R = 0,786$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$); гиперэкспрессия гена *TYMS*, гипо/умеренная экспрессия гена *TYMP*, гипо/умеренная экспрессия гена *OPRT* ($R = 0,785$, $p_{\text{Спирмен}} \leq 0,05$) статистически значимо связаны с возвратом заболевания, химиоустойчивостью, неблагоприятным прогнозом и снижением общей выживаемости пациентов, страдающих колоректальным раком.

Библиографические ссылки

1. Keighley M. R. B. Gastrointestinal cancers in Europe // *Alim. Pharmacol. Ther.* 2003. Vol. 18, № 3. P. 7–30.
2. Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmarks of cancer: the next generation // *J. Cell.* 2011. Vol. 144. P. 646–674.
3. Stöhlmacher J. Pharmacogenetics in gastrointestinal tumors // *Onkologie.* 2005. Vol. 28. P. 435–440.
4. Al-Shammaa Hassan Alaa H., Li Y., Yonemura Y. Current status and future strategies of cytoreductive surgery plus intraperitoneal hyperthermic chemotherapy for peritoneal carcinomatosis // *World J. Gastroenterol.* 2008. Vol. 14. № 8. P. 1159–1166.
5. D'Angelica M., Gonen M., Brennan M. F. Patterns of initial recurrence in completely resected gastric adenocarcinoma // *Ann Surg.* 2004. Vol. 240. № 5. P. 808–816.
6. Watters J. W., McLeod H. L. Cancer pharmacogenomics: current and future applications // *Biochim. Biophys. Acta.* 2003. Vol. 1603 (2). P. 99–111.
7. Longley D. B., Harkin D. P., Johnston P. G. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies // *Nat. Rev. Cancer.* 2003. Vol. 3 (5). P. 330–338.
8. Aschele C., Lonardi S., Monfardini S. Thymidylate Synthase expression as a predictor of clinical response to fluoropyrimidine-based chemotherapy in advanced colorectal cancer // *Cancer. Treat. Rev.* 2002. Vol. 28 (1). P. 27–47.
9. Formentini A., Henne-Bruns D., Kornmann M. Thymidylate synthase expression and prognosis of patients with gastrointestinal cancers receiving adjuvant chemotherapy: a review // *Langenbecks. Arch. Surg.* 2004. Vol. 389 (5). P. 405–413.
10. Gonen M., Hummer A., Zervoudakis A. et al. Thymidylate synthase expression in hepatic tumors is a predictor of survival and progression in patients with resectable metastatic colorectal cancer // *J. Clin. Oncol.* 2003. Vol. 21 (3). P. 406–412.
11. Smorenburg C., Peters G., van Groenigen C., et al. Phase II study of tailored chemotherapy for advanced colorectal cancer with either 5-fluorouracil and leucovorin or oxaliplatin and irinotecan based on the expression of thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase // *Ann. Oncol.* 2006. Vol. 17 (1). P. 35–42.
12. Toi M., AtiqurRahman M., Bando H., et al. Thymidine phosphorylase (platelet-derived endothelial-cell growth factor) in cancer biology and treatment // *Lancet. Oncol.* 2005. Vol. 6 (3). P. 158–166.
13. Kidd E.A., Yu J., Li X., et al. Variance in the expression of 5-Fluorouracil pathway genes in colorectal cancer // *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11(7). P. 2612–2619.
14. Kidd E. A., Yu J., Li X. et al. Variance in the expression of 5-Fluorouracil pathway genes in colorectal cancer // *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11 (7). P. 2612–2619.
15. Shirota Y., Stöhlmacher J., Brabender J. et al. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy // *J. Clin. Oncol.* 2001. Vol. 19 (23). P. 4298–4304.
16. Shirota Y., Stöhlmacher J., Brabender J. et al. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy // *J. Clin. Oncol.* 2001. Vol. 19, № 23. P. 4298–4304.
17. Dervieux T., Meshkin B., Neri B. Pharmacogenetic testing: proofs of principle and pharmacoeconomic implications // *Mutat. Res.* 2005. Vol. 573 (1–2). P. 180–94.

References

1. Keighley M. R. B. Gastrointestinal cancers in Europe. *Alim. Pharmacol. Ther.* 2003. Vol. 18, No 3. P. 7–30.
2. Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *J. Cell.* 2011. Vol. 144. P. 646–674.
3. Stöhlmacher J. Pharmacogenetics in gastrointestinal tumors. *Onkologie.* 2005. Vol. 28. P. 435–440.
4. Al-Shammaa Hassan Alaa H., Li Y., Yonemura Y. Current status and future strategies of cytoreductive surgery plus intraperitoneal hyperthermic chemotherapy for peritoneal carcinomatosis. *World J. Gastroenterol.* 2008. Vol. 14. No 8. P. 1159–1166.
5. D'Angelica M., Gonen M., Brennan M. F. Patterns of initial recurrence in completely resected gastric adenocarcinoma. *Ann Surg.* 2004. Vol. 240. No 5. P. 808–816.
6. Watters J.W., McLeod H. L. Cancer pharmacogenomics: current and future applications. *Biochim. Biophys. Acta.* 2003. Vol. 1603 (2). P. 99–111.
7. Longley D. B., Harkin D. P., Johnston P. G. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat. Rev. Cancer.* 2003. Vol. 3 (5). P. 330–338.

8. Aschele C., Lonardi S., Monfardini S. Thymidylate Synthase expression as a predictor of clinical response to fluoropyrimidine-based chemotherapy in advanced colorectal cancer. *Cancer. Treat. Rev.* 2002. Vol. 28 (1). P. 27–47.
9. Formentini A., Henne-Bruns D., Kornmann M. Thymidylate synthase expression and prognosis of patients with gastrointestinal cancers receiving adjuvant chemotherapy: a review. *Langenbecks. Arch. Surg.* 2004. Vol. 389 (5). P. 405–413.
10. Gonen M., Hummer A., Zervoudakis A., et al. Thymidylate synthase expression in hepatic tumors is a predictor of survival and progression in patients with resectable metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 2003. Vol. 21 (3). P. 406–412.
11. Smorenburg C., Peters G., van Groeningen C., et al. Phase II study of tailored chemotherapy for advanced colorectal cancer with either 5-fluorouracil and leucovorin or oxaliplatin and irinotecan based on the expression of thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase. *Ann. Oncol.* 2006. Vol. 17 (1). P. 35–42.
12. Toi M., AtiqurRahman M., Bando H., et al. Thymidine phosphorylase (platelet-derived endothelial-cell growth factor) in cancer biology and treatment. *Lancet. Oncol.* 2005. Vol. 6 (3). P. 158–166.
13. Kidd E.A., Yu J., Li X., et al. Variance in the expression of 5-Fluorouracil pathway genes in colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11 (7). P. 2612–2619.
14. Kidd E. A., Yu J., Li X., et al. Variance in the expression of 5-Fluorouracil pathway genes in colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11 (7). P. 2612–2619.
15. Shirota Y., Stoecklacher J., Brabender J., et al. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2001. Vol. 19 (23). P. 4298–4304.
16. Shirota Y., Stoecklacher J., Brabender J., et al. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2001. Vol. 19, No 23. P. 4298–4304.
17. Dervieux T., Meshkin B., Neri B. Pharmacogenetic testing: proofs of principle and pharmacoeconomic implications. *Mutat. Res.* 2005. Vol. 573 (1–2). P. 180–94.

Статья поступила в редколлегию 30.11.2018
Received by editorial board 30.11.2018