

УДК 616-006.66:616-08-039.34
DOI 10.34014/2227-1848-2019-4-63-73

УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ В ОПУХОЛИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Л.В. Полуднякова, Д.Р. Долгова, И.И. Антонеева,
Т.В. Абакумова, И.О. Колодий

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия

Цель работы – оценка связи экспрессии генов лекарственной устойчивости в опухолевой ткани больных раком яичников после проведения неoadьювантной химиотерапии (НАХТ) с клинико-патологическими параметрами заболевания.

Материалы и методы. В исследование вошли 26 больных раком яичников после НАХТ по схеме AP. Материал для исследования – парные образцы нормальной и опухолевой ткани яичников. Уровень экспрессии генов ABCB1, ERCC1 и TOP2A оценивали при помощи ПЦР в реальном времени.

Результаты. Выявлено, что у больных до 60 лет уровень экспрессии гена ABCB1 выше, чем у больных старше 60 лет. Экспрессия ERCC1 и TOP2A в разных возрастных группах не отличалась. Не установлена связь изучаемых генов с размером опухоли и метастазированием. Уровень экспрессии генов TOP2A и ABCB1 у больных с рецидивами и без них достоверно не отличался. У больных с рецидивами уровень экспрессии ERCC1 выше, чем у больных без рецидивов. У больных с нормальным значением СА-125 уровень экспрессии ERCC1 ниже, чем у больных с высоким показателем. Анализ связи экспрессии исследуемых генов с общей и безрецидивной выживаемостью больных не дал значимых результатов.

Выводы. Уровень экспрессии гена ABCB1 связан с возрастом пациентов, а уровень экспрессии ERCC1 – с рецидивом заболевания и СА-125. В целом экспрессия изучаемых генов слабо коррелирует с основными клинико-патологическими параметрами заболевания.

Ключевые слова: рак яичников, неoadьювантная химиотерапия, экспрессия, гены лекарственной устойчивости ABCB1, ERCC1, TOP2A.

Введение. Рак яичников (РЯ) является одним из наиболее распространенных и лидирующим по показателям смертности онкогинекологическим заболеванием [1, 2]. Одна из причин смерти при данной нозологии, обуславливающая летальный исход в 70 % случаев, – обнаружение злокачественной опухоли в распространённых стадиях [3].

Основным методом лечения РЯ является хирургическое вмешательство в сочетании с химиотерапией. При отсутствии условий для выполнения оптимальной первичной циторедуктивной операции возможно проведение неoadьювантной химиотерапии (НАХТ), позволяющей в дальнейшем достичь выполнения большего процента оптимальных циторедукций, меньшей кровопотери и улучшения качества жизни [4, 5].

Однако вопрос о значении НАХТ в лечении распространенных стадий РЯ остается нерешенным. Данные клинических исследований относительно эффективности применения НАХТ очень противоречивы [6]. В ряде работ авторы предлагают определять различные показатели для оценки эффективности НАХТ при РЯ, однако способов оценивания, основанных на комплексе клинических и молекулярно-генетических параметров, не обнаружено [7].

Основной причиной неэффективности стандартной химиотерапии рака является химиорезистентность опухолевых клеток. Она может быть первичной или формироваться в процессе лечения вследствие повышения экспрессии энергозависимых транспортеров лекарств, осуществляющих выброс цитостати-

ческих препаратов из опухолевых клеток [8, 9]. Центральную роль в развитии множественной лекарственной устойчивости играет повышенный выход препарата на основе АТФ-связывающих кассетных белков-транспортеров (ABC-белков), что приводит к снижению накопления препаратов внутри раковых клеток и снижению эффективности воздействия [10]. ABCB1 отчетливо коррелирует с худшей чувствительностью к химиотерапии и временем до прогрессирования заболевания [11].

Существенную роль в формировании резистентности / чувствительности опухолевых клеток к отдельным химиопрепаратам играют гены монорезистентности, в частности ERCC1 и TOP2A (топоизомераза 2-альфа) [12]. Однако данные относительно корреляции уровня экспрессии ERCC1, белка эксцизионной репарации, и клинической эффективности платиновых препаратов неоднозначны [13]. Авторы ряда работ доказывают, что препараты платины более эффективны при дефиците функции эксцизионной репарации [14, 15]. S. Lee et al. такую зависимость не выявили [16], С.Н. Kang et al. показали обратное [17]. Прогнозирование эффективности химиотерапии РЯ с использованием уровня экспрессии ERCC1 остаётся до конца не решённой задачей, поэтому до настоящего времени этот маркер рутинно в клинике не используется [18].

Белковый продукт гена TOP2A – топоизомераза 2A – является ферментом, участвующим в изменении структуры хроматина в процессе репликации ДНК [19]. TOP2A играет ключевую роль в стабильности ДНК и представляет собой одну из мишеней химиотерапевтических агентов, таких как этопозид и антрациклины, которые связываются с комплексом «ДНК – топоизомераза 2A» и тем самым тормозят митотическую активность клеток [20, 21]. Данных о прогностической роли TOP2A при раке яичников мало, и они разнородные. Это в основном связано с использованием различных методов обнаружения экспрессии TOP2A, таких как иммуногистохимия, полимеразная цепная реакция в реальном времени и флуоресцентная гибридизация [22].

Цель исследования. Оценка связи экспрессии генов лекарственной устойчивости в

опухолевой ткани больных раком яичников после проведения неoadъювантной химиотерапии с клинико-патологическими параметрами заболевания.

Материалы и методы. В исследование были включены 26 больных РЯ III–IV стадий с морфологически верифицированным диагнозом, которые находились на лечении в Областном клиническом онкологическом диспансере г. Ульяновска с 2015 по 2019 г. Больные давали письменное добровольное информированное согласие на проведение лечения; все исследования выполнялись в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации (2013). Пациенткам проводилась неoadъювантная стандартная химиотерапия по схеме AP от 2 до 4 курсов с интервалом 3 нед., затем циторедуктивная операция и адъювантная химиотерапия.

Материалом для исследования служили парные образцы условно нормальной и опухолевой ткани яичников, полученные во время операции, зафиксированные в стабилизирующем РНК растворе IntactRNA (ООО «Евроген», г. Москва) и сохраненные при температуре -80°C . Тотальная РНК выделялась методом гуанидин-тиоцианат-фенол-хлороформной экстракции по P. Chomczynski & N. Sacchi (2006) [23] с использованием реагента Extract RNA (ООО «Евроген»). Для получения кДНК на матрице РНК проводилась реакция обратной транскрипции на амплификаторе нуклеиновых кислот CFX96 (BioRad, США) с использованием фермента обратной транскриптазы вируса лейкемии мышей MMLV-ревертазы, случайных праймеров (random hexamer) и компонентов набора MMLV RT Kit («Евроген»). Уровень экспрессии генов ABCB1, ERCC1, TOP2A оценивался методом количественной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) на амплификаторе CFX96.

Использовались пары зондов и праймеров (TaqMan® Gene Expression Assay) производства ThermoScientific (США). Для нормализации данных в качестве генов-рефери выбраны гены 18S (Hs99999901_s1) и GAPDH (Hs03929097_g1). Уровень экспрессии каждого целевого гена нормализовался по отношению к экспрессии генов-рефери и нормальной ткани. Относительная экспрессия генов

рассчитывалась с помощью метода Pfaffl и выражалась в условных единицах [24].

Больные были разделены на группы по

клинико-патологическим параметрам (табл. 1). В представленных группах оценивался уровень экспрессии исследуемых генов.

Таблица 1

Table 1

Основные клинико-патологические параметры больных раком яичников

Main clinical and pathological parameters of ovarian cancer patients

Клинико-патологический параметр Clinical and pathological parameters		Количество больных (n=26), абс. (%) Number of patients (n=26), absolute value (%)
Возраст Age	≤60 лет ≤60 years old	12 (46,2)
	>60 лет >60 years old	14 (53,8)
Размер опухоли Tumor size	T ₃	18 (69,2)
	T ₄	8 (30,8)
Отдаленное метастазирование Distant metastasis	M ₀	17 (65,4)
	M ₁	9 (34,6)
Безрецидивный период Relapse-free period	≤12 мес. ≤12 months	16 (62)
	>12 мес. >12 months	10 (38,5)
Уровень СА-125 после НАХТ CA-125 level after NACHT	≤35 ед./мл ≤35 U/ml	11 (42)
	>35 ед./мл >35 U/ml	15 (58)

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программ STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США). Для каждой выборки вычислялись среднее арифметическое и средняя квадратичная ошибка. Значимость различий между исследуемыми группами оценивалась с помощью критерия Вилкоксона–Манна–Уитни. Корреляционная связь между параметрами анализировалась с применением коэффициента Спирмена. Для анализа общей и безрецидивной выживаемости использовались кривые выживаемости по методу Каплана–Майера. Статистически значимыми считались различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. Результаты оценки связи относительной экспрессии исследуемых генов с основными клинико-патологическими параметрами представлены в

табл. 2. Установлена связь между уровнем экспрессии гена ABCB1 и возрастом пациентов: у больных до 60 лет уровень экспрессии этого гена оказался достоверно выше ($p=0,03$). С экспрессией ABC-транспортеров связан менструальный статус, который во многом является функцией возраста. В исследовании L. Moureau-Zabotto et al. отмечена более высокая экспрессия ABCB1 у больных с сохраненным менструальным циклом [25]; Н.В. Литвяков наблюдал подобную зависимость у больных раком молочной железы [26]. Значимая связь между уровнем экспрессии генов ERCC1 и TOP2A и возрастом больных не выявлена.

Также не установлена связь изучаемых генов в опухоли с ее размером и отдаленным метастазированием. Уровень экспрессии генов TOP2A и ABCB1 у больных с рецидивами и

без них достоверно не отличался. Достоверно выше оказался уровень экспрессии ERCC1 у больных с рецидивами, возникшими до года, по сравнению с безрецидивным течением. Это согласуется с клиническими исследованиями, в которых показано, что низкий уровень экс-

прессии ERCC1 благоприятно влияет на показатели выживаемости. Препараты платины, используемые при химиотерапии, демонстрируют более высокую активность при дефиците функции эксцизионной репарации, т.е. при низком уровне ERCC1 [14, 15].

Таблица 2
Table 2

Уровень экспрессии генов в опухоли после НАХТ в зависимости от основных клинико-патологических параметров (M±m)

The level of gene expression in the tumor after NACT depending on the main clinical and pathological parameters (M±m)

Клинико-патологический параметр Clinical and pathological parameter		ERCC1	TOP2A	ABCBI
Возраст Age	≤60 лет ≤60 years old	1,90±0,64	1,95±0,62	2,22±0,76
	>60 лет >60 years old	1,33±0,46	1,20±0,45	1,05±0,69
	p-value	p=0,44	p=0,34	p=0,03
Размер опухоли Tumor size	T ₃	1,48±0,47	1,21±0,39	1,59±0,65
	T ₄	1,86±0,68	2,30±0,84	1,58±0,88
	p-value	p=0,66	p=0,33	p=0,87
Отдаленное метастазирование Distant metastasis	M ₀	1,56±0,49	1,25±0,41	1,55±0,69
	M ₁	1,66±0,63	2,12±0,77	1,68±0,78
	p-value	p=0,98	p=0,33	p=0,69
Безрецидивный период Relapse-free period	≤12 мес. ≤12 months	2,75±0,51	1,56±0,48	1,57±0,72
	>12 мес. >12 months	0,90±0,28	1,54±0,63	1,63±0,71
	p-value	p=0,01	p=0,62	p=0,3
Уровень СА-125 после НАХТ CA-125 level after NACT	≤35 ед./мл ≤35 U/ml	0,56±0,28	0,67±0,5	0,71±0,35
	>35 ед./мл >35 U/ml	1,92±0,34	1,69±0,67	1,31±0,74
	p-value	p=0,04	p=0,28	p=0,77

Примечание. P-value – показатель достоверности различий данных в сравниваемых группах.

Note. P-value is a certainty index of data differences in compared groups.

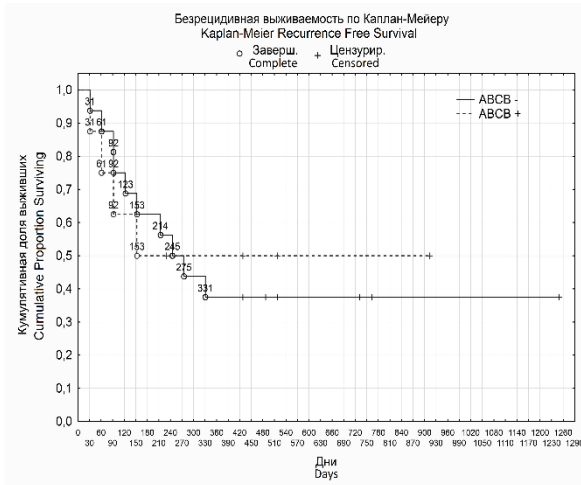
При сравнении экспрессии исследуемых генов после НАХТ в группах больных с нормальным (до 35 ед./мл) и высоким уровнем СА-125 достоверное отличие обнаружено только по ERCC1. У больных с нормальным значением СА-125 уровень экспрессии

ERCC1 был ниже. Корреляционный анализ выявил достоверную положительную связь между уровнем онкомаркера СА-125 и экспрессией ERCC1 (по Спирмену; $r=0,495$). В исследовании I. Chebouti et al. установлена ко-экспрессия уровня ERCC1 в циркулирующих

опухолевых клетках и СА-125, которая сопровождалась уменьшением безрецидивного периода [27]. В нашей работе уровень экспрессии ERCC1 у больных с ранними рецидивами также был выше, что может быть связано с устойчивостью к химиотерапии на основе

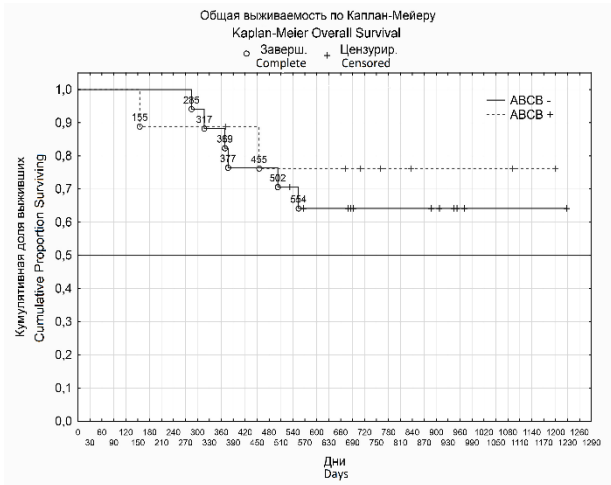
препаратов платины [28].

Также был проведен анализ связи экспрессии исследуемых генов с общей и безрецидивной выживаемостью больных (рис. 1). Однако достоверной связи установлено не было.



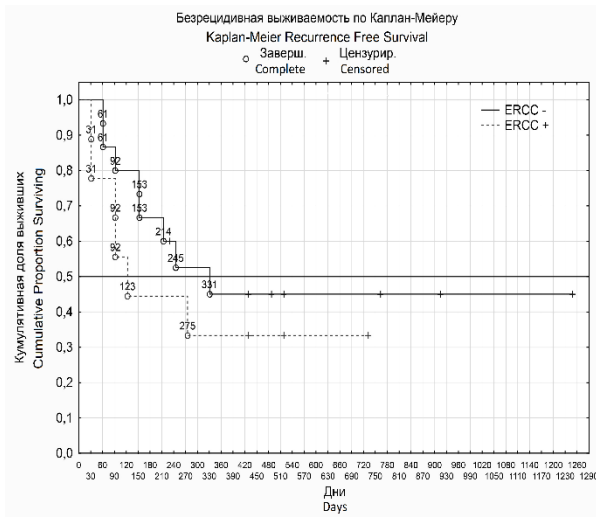
A (p=0,89)

A (p=0,89)



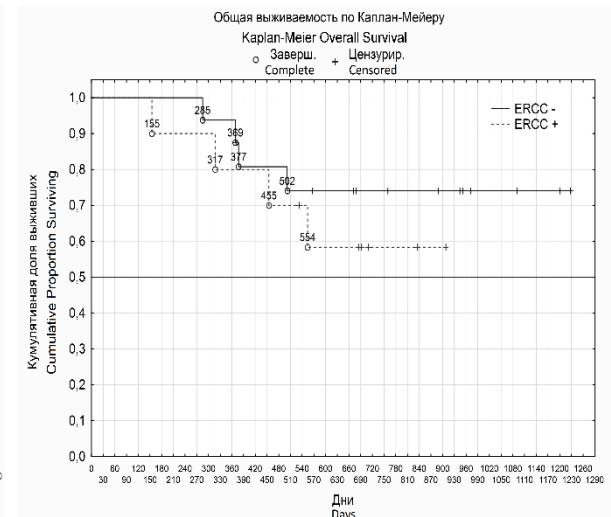
Б (p=0,6)

В (p=0,6)



В (p=0,39)

С (p=0,39)



Г (p=0,45)

Д (p=0,45)

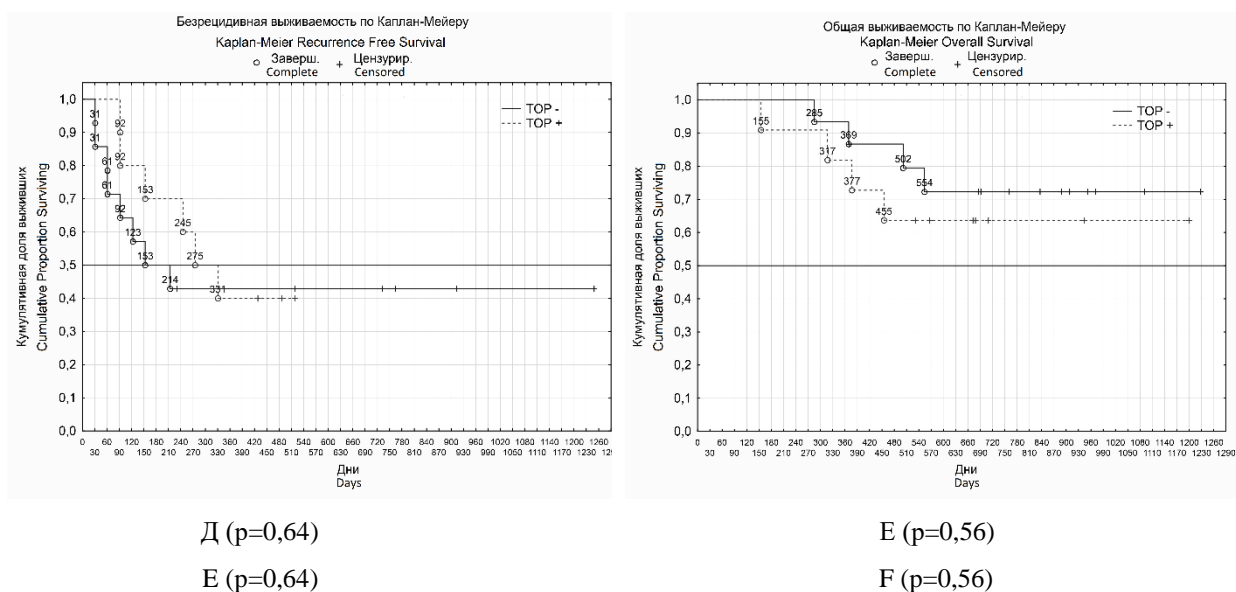


Рис. 1. Графики общей и безрецидивной выживаемости больных с раком яичников после НАХТ с экспрессией (пунктирные линии) и без нее (сплошные линии) следующих генов: ABCB1 (А, Б), ERCC1 (В, Г), TOP 2A (Д, Е).

Примечание. p – уровень статистической значимости по log-rank test

Fig. 1. Graphs of the overall and relapse-free survival of patients with ovarian cancer after NACHT with expression (dashed lines) and without expression (solid lines) of the following genes: ABCB1 (A, B), ERCC1 (C, D), TOP 2A (E, F).

Note. P is the statistical significance level according to log-rank test

Заключение. В результате исследования установлено, что экспрессия генов лекарственной устойчивости в опухолевой ткани больных раком яичников после проведения неоадьювантной химиотерапии слабо коррелирует с основными клинико-патологическими параметрами. Статистически значимой оказалась лишь связь уровня экспрессии гена ABCB1 с возрастом пациентов и уровнем экспрессии гена ERCC1 с рецидивом заболевания и уровнем CA-125.

Анализ связи экспрессии исследуемых генов с общей и безрецидивной выживаемостью больных достоверных различий не показал.

Существует мнение, что путь от экспрессии гена до синтеза белка длинный и может прерваться на различных этапах. По уровню экспрессии мРНК гена трудно судить об уровне белка в клетке и об активности развития лекарственной устойчивости к химиопрепаратам [13].

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ (МК-3196.2018.7).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Momenimovahed Z., Tiznobaik A., Taheri S., Salehiniya H. Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors. Int. J. Womens Health. 2019; 11: 287–299.
2. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J. Clin. 2018; 68 (6): 394–424.
3. Wenham R.M. Ovarian cancer: a bright future. Cancer Control. 2011; 18: 4–5.

4. *Morimoto A., Nagao S., Kogiku A.* A preoperative low cancer antigen 125 level (<25.8 mg/dL) is useful criterion to determine the optimal timing of interval debulking surgery following neoadjuvant chemotherapy in epithelial ovarian cancer. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2016; 46 (6): 517–521.
5. *Ledermann J.A., Raja F.A.* Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up 2013. *Ann. Oncol.* 2013; 24 (6): 24–32.
6. *Солопова А.Е., Чащин А.А., Солопова А.Г., Гуров С.Н., Макацария А.Д.* Неoadъювантная химиотерапия рака яичников. Современные возможности и критерии отбора пациенток. *Акушерство, гинекология и репродукция.* 2016; 2: 44–54.
7. *Виллерт А.Б., Коломиец Л.А., Юнусова Н.В., Иванова А.А.* Асцит как предмет исследований при раке яичников. *Сибирский онкологический журнал.* 2019; 18 (1): 116–123.
8. *Schinkel A.H., Jonker J.W.* Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2003; 55 (1): 3–29.
9. *Юмов Е.Ю., Цыганов М.М., Литвяков Н.В., Полищук Т.В.* Экспрессия генов множественной лекарственной устойчивости и монорезистентности при немелкоклеточном раке легкого. *Сибирский онкологический журнал.* 2014; 61 (1): 16–22.
10. *Pan S.T., Li Z.L., He Z.X., Qiu J.X., Zhou S.F.* Molecular mechanisms for tumour resistance to chemotherapy. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2016; 43 (8): 723–737.
11. *Seborova K., Vaclavikova R., Soucek P.* Association of ABC gene profiles with time to progression and resistance in ovarian cancer revealed by bioinformatics analyses. *Cancer Med.* 2019; 00: 1–11.
12. *Цыганов М. М.* Оценка прогностической значимости экспрессии генов монорезистентности в опухоли больных немелкоклеточным раком легкого после предоперационной химиотерапии. *Вопросы онкологии.* 2017; 1: 122–127.
13. *Бозуш Т.А., Стенина М.Б., Бозуш Е.А., Заркуа В.Т., Калюжный С.А., Мамичев И.А., Тюляндина А.С., Тюляндин С.А.* Количественные показатели экспрессии ERCC1 в ткани серозного рака яичников и эффективность I линии химиотерапии с включением препаратов платины. *Антибиотики и химиотерапия.* 2018; (1-2): 24–31.
14. *D’Incalci M., Galmarini C.M.* Predicting cisplatin and trabectedin drug sensitivity in ovarian and colon cancers. *Mol. Cancer Ther.* 2008; 7 (1): 10–18.
15. *Хохлова С.В., Черкасова М.В., Орел Н.Ф., Лимарева С.В., Базаева И.Я., Горбунова В.А.* Каким больным раком яичника показана комбинация трабектедина с пегилированным липосомальным доксорубицином. *Вестник РАМН.* 2013; 11: 115–121.
16. *Lee S.M., Falzon M., Blackhall F.* Randomized prospective biomarker trial of ercc1 for comparing platinum and nonplatinum therapy in advanced non-small-cell lung cancer: ERCC1 trial (ET). *J. Clin. Oncol.* 2017; 35 (4): 402–411.
17. *Kang C.H., Jang B.G., Kim D.W.* The prognostic significance of ERCC1, BRCA1, XRCC1, and betaIII-tubulin expression in patients with non-small cell lung cancer treated by platinum- and taxane-based neoadjuvant chemotherapy and surgical resection. *Lung Cancer.* 2010; 68 (3): 478–483.
18. *Бозуш Т.А., Попова А.С., Дудко Е.А., Бозуш Е.А., Тюляндина А.С., Тюляндин С.А.* ERCC1 как маркер резистентности рака яичников к препаратам платины. *Антибиотики и химиотерапия.* 2015; 60 (3–4): 42–50.
19. *Северин С.Е.* Биологическая химия. Москва; 2011. 624.
20. *Li D., Yuan Z., Chen S., Zhang C., Song L., Gao C., Chen Y., Tan C., Jiang Y.* Synthesis and biological research of novel azaacridine derivatives as potent DNA-binding ligands and topoisomerase II inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* 2017; 25 (13): 3437–3446.
21. *Konecny G.E., Pauletti C., Untch M., Wang H.-J., Modus V., Kulin W., Thomssen C., Harbeck N., Wang L., Apple S., Janicke F., Slamon D.J.* Association between HER2, TOP2A, and response to anthracycline-based preoperative chemotherapy in high-risk primary breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 2010; 120: 481–489.
22. *Ghisoni E., Maggiorotto F., Borella F., eds.* TOP2A as marker of response to pegylated liposomal doxorubicin (PLD) in epithelial ovarian cancers. *Journal of Ovarian Research.* 2019; 12: 17.
23. *Chomczynski P., Sacchi N.* The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. *Nat. Protoc.* 2006; 1 (2): 581–585.
24. *Pfaffl M.W.* A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic acids research.* 2001; 9 (9): 45.

25. *Moureau-Zabotto L., Ricci S., Lefranc J.P., Coulet F., Genestie C., Antoine M., Uzan S., Lotz J.P., Touboul E., Lacave R.* Prognostic impact of multidrug resistance gene expression on the management of breast cancer in the context of adjuvant therapy based on a series of 171 patient. *Br. J. Cancer.* 2006; 94 (4): 473–480.
26. *Литвяков Н.В.* Регуляция экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли молочной железы при проведении неoadъювантной химиотерапии: дис. ... д-ра биол. наук. Томск; 2014. 237.
27. *Chebouti I., Kuhlmann J.D., Buderath P.* ERCC1-expressing circulating tumor cells as a potential diagnostic tool for monitoring response to platinum-based chemotherapy and for predicting post-therapeutic outcome of ovarian cancer. *Oncotarget.* 2017; 8 (15): 24303–24313.
28. *Du P., Wang Y., Chen L., Gan Y., Wu Q.* High ERCC1 expression is associated with platinum-resistance, but not survival in patients with epithelial ovarian cancer. *Oncol Lett.* 2016; 12 (2): 857–862.

Поступила в редакцию 11.08.2019; принята 01.11.2019.

Авторский коллектив

Полуднякова Людмила Викторовна – кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии и патофизиологии, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 4321017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: ya.mila-33@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1320-9287>.

Долгова Динара Ришатовна – кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии и патофизиологии, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 4321017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: dolgova.dinara@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5475-7031>.

Антонеева Инна Ивановна – доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии и лучевой диагностики, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 4321017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: antoneevaii@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1525-2070>.

Абакумова Татьяна Владимировна – кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии и патофизиологии, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 4321017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: taty-abakumova@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7559-5246>.

Колодий Ирина Олеговна – студентка 4 курса медицинского факультета, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет». 4321017, Россия, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42; e-mail: irina_kolodiy@list.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8623-6027>.

Образец цитирования

Полуднякова Л.В., Долгова Д.Р., Антонева И.И., Абакумова Т.В., Колодий И.О. Уровень экспрессии генов лекарственной устойчивости в опухоли больных раком яичников после неoadъювантной химиотерапии. Ульяновский медико-биологический журнал. 2019; 4: 63–73. DOI: 10.34014/2227-1848-2019-4-63-73.

EXPRESSION LEVEL OF DRUG RESISTANCE GENES IN THE TUMOR OF OVARIAN CANCER PATIENTS AFTER NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY

L.V. Poludnyakova, D.R. Dolgova, I.I. Antoneeva, T.V. Abakumova, I.O. Kolodiy

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia

The purpose of the paper is to evaluate the relationship between the expression of drug resistance genes in the tumor tissue of patients with ovarian cancer after neoadjuvant chemotherapy (NACT) with clinical and pathological disease parameters.

Materials and Methods. The study included 26 patients with ovarian cancer who had undergone NACT according to the AP scheme. The authors used paired samples of normal and tumor ovarian tissue as material for their study. The expression level of ABCB1, ERCC1, and TOP2A genes was evaluated by real-time PCR.

Results. It was found out that in patients under 60 years of age, the level of ABCB1 expression is higher than in patients over 60. ERCC1 and TOP2A expression in different age groups was the same. The linkage between the studied genes, tumor size and metastasis was not discovered. TOP2A and ABCB1 expression levels in patients with and without relapses did not differ significantly. In patients with relapses, the level of ERCC1 expression is higher than in patients without relapses. In patients with a normal CA-125 value, the level of ERCC1 expression is lower than in patients with a high CA-125 value. An analysis of the linkage between the expression of the studied genes and the general and relapse-free patient survival did not give significant results.

Conclusion. The level of ABCB1 expression is associated with the patients' age, while the level of ERCC1 expression is connected with disease recurrence and CA-125. In general, the expression of the studied genes weakly correlates with the main clinical and pathological disease parameters.

Keywords: ovarian cancer, neoadjuvant chemotherapy, expression, drug resistance genes ABCB1, ERCC1, TOP2A.

This work was supported by a grant of RF President (MK-3196.2018.7).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

References

1. Momenimovahed Z., Tiznobaik A., Taheri S., Salehiniya H. Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors. *Int. J. Womens Health.* 2019; 11: 287–299.
2. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2018; 68 (6): 394–424.
3. Wenham R.M. Ovarian cancer: a bright future. *Cancer Control.* 2011; 18: 4–5.
4. Morimoto A., Nagao S., Kogiku A. A preoperative low cancer antigen 125 level (<25.8 mg/dL) is useful criterion to determine the optimal timing of interval debulking surgery following neoadjuvant chemotherapy in epithelial ovarian cancer. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2016; 46 (6): 517–521.
5. Ledermann J.A., Raja F.A. Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up 2013. *Ann. Oncol.* 2013; 24 (6): 24–32.
6. Solopova A.E., Chashchin A.A., Solopova A.G., Gurov S.N., Makatsariya A.D. Neoadjuvantnaya khimioterapiya raka yaichnikov. Sovremennye vozmozhnosti i kriterii otbora patsientok [Neoadjuvant chemotherapy for epithelial ovarian cancer. Modern methods and patients' selection criteria]. *Akusherstvo, ginekologiya i reproduksiya.* 2016; 2: 44–54 (in Russian).
7. Villert A.B., Kolomiets L.A., Yunusova N.V., Ivanova A.A. Astsit kak predmet issledovaniy pri rake yaichnikov [Ascites as a subject of studies in ovarian cancer]. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal.* 2019; 18 (1): 116–123 (in Russian).
8. Schinkel A.H., Jonker J.W. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2003; 55 (1): 3–29.
9. Yumov E.Yu., Tsyganov M.M., Litvyakov N.V., Polishchuk T.V. Ekspressiya genov mnozhestvennoy lekarstvennoy ustoychivosti i monorezistentnosti pri nemelkokletochnom rake legkogo [Expression of multiple-drug-resistance-genes and monoresistance genes in non-small-cell lung cancer]. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal.* 2014; 61 (1): 16–22 (in Russian).
10. Pan S.T., Li Z.L., He Z.X., Qiu J.X., Zhou S.F. Molecular mechanisms for tumour resistance to chemotherapy. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2016; 43 (8): 723–737.
11. Seborova K., Vaclavikova R., Soucek P. Association of ABC gene profiles with time to progression and resistance in ovarian cancer revealed by bioinformatics analyses. *Cancer Med.* 2019; 00: 1–11.
12. Tsyganov M. M. Otsenka prognosticheskoy znachimosti ekspressii genov monorezistentnosti v opukholi bol'nykh nemelkokletochnym rakom legkogo posle predoperatsionnoy khimioterapii [Prognostic significance of monoresistance gene expression in tumors of patients with non-small-cell lung cancer after preoperative chemotherapy]. *Voprosy onkologii.* 2017; 1: 122–127 (in Russian).

13. Bogush T.A., Stenina M.B., Bogush E.A., Zarkua V.T., Kalyuzhnyy S.A., Mamichev I.A., Tyulyandina A.S., Tyulyandin S.A. Kolichestvennye pokazateli ekspressii ERCC1 v tkani seroznogo raka yaichnikov i effektivnost' I linii khimioterapii s vklyucheniem preparatov platiny [Quantitative indices of ERCC1 expression in serous ovarian cancer tissue and efficacy of first-line platinum-based chemotherapy]. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2018; (1-2): 24–31 (in Russian).
14. D'Incalci M., Galmarini C.M. Predicting cisplatin and trabectedin drug sensitivity in ovarian and colon cancers. *Mol. Cancer Ther.* 2008; 7 (1): 10–18.
15. Khokhlova S.V., Cherkasova M.V., Orel N.F., Limareva S.V., Bazaeva I.Ya., Gorbunova V.A. Kakim bol'nym rakom yaichnika pokazana kombinatsiya trabektedina s pegilirovannym liposomal'nym doksorubitsinom [What patients with ovarian cancer need a combination of trabectedine with pegylated liposomal doxorubicin]. *Vestnik RAMN*. 2013; 11: 115–121 (in Russian).
16. Lee S.M., Falzon M., Blackhall F. Randomized prospective biomarker trial of ercc1 for comparing platinum and nonplatinum therapy in advanced non-small-cell lung cancer: ERCC1 trial (ET). *J. Clin. Oncol.* 2017; 35 (4): 402–411.
17. Kang C.H., Jang B.G., Kim D.W. The prognostic significance of ERCC1, BRCA1, XRCC1, and betaIII-tubulin expression in patients with non-small cell lung cancer treated by platinum- and taxane-based neoadjuvant chemotherapy and surgical resection. *Lung Cancer*. 2010; 68 (3): 478–483.
18. Bogush T.A., Popova A.S., Dudko E.A., Bogush E.A., Tyulyandina A.S., Tyulyandin S.A. ERCC1 kak marker rezistentnosti raka yaichnikov k preparatam platiny [ERCC1 as a marker of ovarian cancer resistance to platinum drugs]. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2015; 60 (3–4): 42–50 (in Russian).
19. Severin S.E. *Biologicheskaya khimiya* [Biological chemistry.]. Moscow; 2011. 624 (in Russian).
20. Li D., Yuan Z., Chen S., Zhang C., Song L., Gao C., Chen Y., Tan C., Jiang Y. Synthesis and biological research of novel azaacridine derivatives as potent DNA-binding ligands and topoisomerase II inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* 2017; 25 (13): 3437–3446.
21. Konecny G.E., Pauletti C., Untch M., Wang H.-J., Modus V., Kulin W., Thomssen C., Harbeck N., Wang L., Apple S., Janicke F., Slamon D.J. Association between HER2, TOP2A, and response to anthracycline-based preoperative chemotherapy in high-risk primary breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 2010; 120: 481–489.
22. Ghisoni E., Maggiorotto F., Borella F., eds. TOP2A as marker of response to pegylated liposomal doxorubicin (PLD) in epithelial ovarian cancers. *Journal of Ovarian Research*. 2019; 12: 17.
23. Chomczynski P., Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. *Nat. Protoc.* 2006; 1 (2): 581–585.
24. Pfaffl M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic acids research*. 2001; 9 (9): 45.
25. Moureau-Zabotto L., Ricci S., Lefranc J.P., Coulet F., Genestie C., Antoine M., Uzan S., Lotz J.P., Touboul E., Lacave R. Prognostic impact of multidrug resistance gene expression on the management of breast cancer in the context of adjuvant therapy based on a series of 171 patients. *Br. J. Cancer*. 2006; 94 (4): 473–480.
26. Litvyakov N.V. *Regulyatsiya ekspressii genov mnozhestvennoy lekarstvennoy ustoychivosti v opukholi molochnoy zhelezy pri provedenii neoad'yuvantnoy khimioterapii* [Regulation of multidrug resistance gene expression in breast tumors under neoadjuvant chemotherapy]: dis. ... d-ra biol. nauk. Tomsk; 2014. 237 (in Russian).
27. Chebouti I., Kuhlmann J.D., Buderath P. ERCC1-expressing circulating tumor cells as a potential diagnostic tool for monitoring response to platinum-based chemotherapy and for predicting post-therapeutic outcome of ovarian cancer. *Oncotarget*. 2017; 8 (15): 24303–24313.
28. Du P., Wang Y., Chen L., Gan Y., Wu Q. High ERCC1 expression is associated with platinum-resistance, but not survival in patients with epithelial ovarian cancer. *Oncol Lett*. 2016; 12 (2): 857–862.

Received 11 August 2019; Accepted 01 November 2019.

Information about the authors

Poludnyakova Lyudmila Viktorovna, Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Chair of Physiology and Pathophysiology, Ulyanovsk State University. 4321017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: ya.mila-33@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1320-9287>.

Dolgova Dinara Rishatovna, Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, Chair of Physiology and Pathophysiology, Ulyanovsk State University. 4321017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: dolgova.dinara@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5475-7031>.

Antoneeva Inna Ivanovna, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Chair of Oncology and Radiation Diagnostics, Ulyanovsk State University. 4321017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: antoneevaii@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1525-2070>.

Abakumova Tat'yana Vladimirovna, Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, Chair of Physiology and Pathophysiology, Ulyanovsk State University. 4321017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: taty-abakumova@yandex.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7559-5246>.

Kolodiy Irina Olegovna, 4th-year Student, Medical Department, Ulyanovsk State University. 4321017, Russia, Ulyanovsk, L. Tolstoy St., 42; e-mail: irina_kolodiy@list.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8623-6027>.

For citation:

Poludnyakova L.V., Dolgova D.R., Antoneeva I.I., Abakumova T.V., Kolodiy I.O. Uroven' ekspressii genov lekarstvennoy ustoychivosti v opukholi bol'nykh rakom yaichnikov posle neoad'yuvantnoy khimioterapii [Expression level of drug resistance genes in the tumor of ovarian cancer patients after neoadjuvant chemotherapy]. *Ulyanovsk Medico-Biological Journal*. 2019; 4: 63–73. DOI: 10.34014/2227-1848-2019-4-63-73.