

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Renatas Aškinis

**DNR taisymo sistemos genų raiškos svarba numatant pacientų,  
sergančių IB – IIIA stadijų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu,  
pooperacinį gydymą**

Daktaro disertacija

Biomedicinos mokslai, medicina (06B)

Vilnius, 2017

Disertacija rengta 2012 – 2016 metais Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Vidaus ligų, šeimos medicinos ir onkologijos klinikoje.

**Mokslinis vadovas** – prof. dr. Saulius Cicėnas (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B).

## Turinys

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Santrumpų sąrašas .....</b>  | <b>6</b>  |
| <b>Lentelių sąrašas .....</b>   | <b>9</b>  |
| <b>Paveikslų sąrašas .....</b>  | <b>12</b> |
| <b>1. Įvadas.....</b>   | <b>13</b> |
| 1.1. Darbo aktualumas .....   | 13        |
| 1.2. Darbo tikslas .....  | 18        |
| 1.3. Darbo uždaviniai.....  | 18        |
| 1.4. Darbo naujumas .....   | 18        |
| 1.5. Darbo praktinė nauda.....  | 19        |
| <b>2. Literatūros apžvalga .....</b>  | <b>20</b> |
| 2.1. ERCC1 ir RRM1 genų tyrimai eksperimentiniuose tyrimuose su bakterijomis, ląstelių kultūromis su medikamentais in vitro, kamieninėmis ląstelėmis, eksperimentiniais gyvūnėliais ..... | 20        |
| 2.2. ERCC1 ir RRM1 genų tyrimai, nesusiję su plaučių vėžiu .....  | 22        |
| 2.3. ERCC1 ir RRM1 genų tyrimai sergantiesiems plaučių vėžiu .....  | 27        |
| 2.4. Literatūros apžvalgos apibendrinimas .....   | 39        |
| <b>3. Tyrimo metodika .....</b>   | <b>43</b> |
| 3.1. Perspektyvinio stebėsenos tyrimo apibūdinimas .....  | 43        |
| 3.2. Tyrimo ir gydymo schema.....   | 45        |
| 3.3. Ligonių atranka tyrimui .....  | 46        |
| 3.3.1. Ligonių įtraukimo į tyrimą kriterijai .....  | 46        |
| 3.3.2. Ligonių neįtraukimo į tyrimą kriterijai .....  | 46        |
| 3.3.3. Ligonių pašalinimas iš tyrimo.....   | 47        |
| 3.4. Plaučių vėžio stadijos įvertinimas.....  | 48        |
| 3.5. Ligonio būklės vertinimo kriterijai .....  | 52        |
| 3.6. Plaučių piktybinių navikų histologinių formų klasifikacija.....  | 53        |
| 3.7. Chirurginio gydymo metodika.....   | 54        |
| 3.7.1. Anotominė segmentektomija [127].....   | 54        |
| 3.7.2. Lobektomija [127] .....  | 55        |
| 3.7.3. Pulmonektomija [127] .....   | 55        |

|  |            |
|--|------------|
| 3.7.4. Tarpuplaučio limfadenektomija [127] .....   | 56         |
| 3.8. Molekulinės diagnostikos metodika .....   | 57         |
| 3.8.1. Genų raiškos nustatymas.....  | 57         |
| 3.8.1.1. RNR gryninimas iš kraujo .....  | 58         |
| 3.8.1.2. RNR gryninimas iš navikinio ir sveiko audinio .....   | 58         |
| 3.8.1.3. RNR gryninimas iš bronchų nuoplovų.....   | 59         |
| 3.8.1.4. Kopijinės DNR sintezė.....  | 60         |
| 3.8.1.5. Kiekybinė polimerazės grandininė reakcija .....   | 61         |
| 3.8.2. Genų polimorfizmo nustatymas .....  | 62         |
| 3.8.2.1. DNR gryninimas iš kraujo.....   | 62         |
| 3.8.2.2. Polimerazės grandininė reakcija.....  | 62         |
| 3.8.2.3. Restrikcijos fragmentų ilgio polimorfizmo metodas.....  | 64         |
| 3.9. Pooperacinės adjuvantinės chemoterapijos metodika.....  | 65         |
| 3.10. Ligonių stebėjimas .....   | 66         |
| 3.11. Statistinė duomenų analizė .....   | 67         |
| <b>4. Darbo rezultatai.....</b>  | <b>68</b>  |
| 4.1. Tyrime dalyvavusių pacientų charakteristikos .....  | 68         |
| 4.2. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos tyrimas sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu mėginiuose   | 71         |
| 4.2.1. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos tyrimas navike .....   | 73         |
| 4.2.2. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos tyrimas kraujyje.....  | 77         |
| 4.2.3. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos tyrimas bronchų sekrete .....  | 81         |
| 4.2.4. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos tyrimas kraujyje po gydymo .....   | 85         |
| 4.3. ERCC1 (118 kodono C/T) ir RRM1 promotorinėje srityje esančių (-37A→C bei -524C→T) genų polimorfizmo tyrimas sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu kraujo mėginiuose ..... | 95         |
| 4.3.1. ERCC1 (118 kodono C/T) geno polimorfizmo tyrimas kraujyje .....   | 95         |
| 4.3.2. RRM1 (-37A→C) geno polimorfizmo tyrimas kraujyje .....  | 97         |
| 4.3.3. RRM1 (-524C→T) geno polimorfizmo tyrimas kraujyje.....  | 99         |
| 4.3.4. ERCC1 (118 kodono C/T) ir RRM1 promotorinėje srityje esančių (-37A→C bei -524C→T) genų polimorfizmo koreliacija .....   | 101        |
| 4.4. Sergančiųjų IB – IIIA stadijų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu pacientų ligos progresavimui įtaką darantys veiksniai .....   | 103        |
| <b>5. Rezultatų aptarimas .....</b>  | <b>105</b> |

|  |            |
|--|------------|
| 5.1. Įvertinti ERCC1 ir RRM1 genų raiškos nustatymo svarbą sergančiųjų ankstyvų stadijų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu iki ligos progresavimo ar atkryčio po gydymo.....  | 105        |
| 5.2. Įvertinti ERCC1 ir RRM1 genų raiškos nustatymo reikšmę po pooperacinio chemoterapinio gydymo ligos prognozei bei geresniam atsakui į pooperacinį gydymą. ....   | 107        |
| 5.3. Ištirti ERCC1 ir RRM1 genų polimorfizmus (ERCC1 118 kodono ir RRM1 promotorinėje srityje esančius -37A→C ir -524C→T) sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu kraujyje, bronchų sekrete ir navike dėl galimos ligos progresavimo tikimybės. .... | 108        |
| <b>6. Išvados .....</b>  | <b>110</b> |
| <b>7. Praktinės rekomendacijos .....</b>   | <b>111</b> |
| <b>8. Literatūra .....</b>   | <b>112</b> |
| <b>9. Mokslinių publikacijų ir pranešimų sąrašas.....</b>  | <b>130</b> |
| <b>10. Priedai.....</b>  | <b>132</b> |
| 10.1. I priedas. Leidimas atlikti biomedicininį tyrimą.....  | 132        |
| 10.2. II priedas. Leidimas biomedicininio tyrimo papildymui .....  | 133        |
| 10.3. III priedas. Asmens informavimo forma.....   | 134        |
| 10.4. IV priedas. Informuoto asmens sutikimo forma .....   | 135        |
| <b>11. Padėka .....</b>  | <b>136</b> |

## Santrumpų sąrašas

ALK – (angl. Anaplastic Lymphoma Receptor Tyrosine Kinase) anaplastinės limfomos receptoriaus tirozinkinazė;

ALPI – (angl. Adjuvant Lung Project Italy) Italijos adjuvantinis plaučių projektas;

ANITA – (angl. Adjuvant Navelbine International Trialist Association) adjuvantinė navelbino tarptautinė tyrėjų asociacija;

AUC – (angl. area under the curve) plotas po kreive;

bp – bazių pora;

BRCA1 – (angl. breast cancer 1) genas;

CALGB – (angl. Cancer and Leukemia Group B) Vėžio ir Leukemijos grupė B;

CDA – (angl. Cytidine Deaminase) genas;

CI – (angl. Confidence Interval) pasikliautinis intervalas;

DNR – deoksiribonukleino rūgštis;

ECOG – (angl. The Eastern Cooperative Oncology Group) Rytų jungtinė onkologijos grupė;

EGFR – (angl. Epidermal Growth Factor Receptor) epitelio augimo faktoriaus receptorius;

EKG – elektrokardiograma;

ERCC1 – (angl. Excision Repair Cross-Complementing Group 1) iškirpimo atstatymo kryžminio papildymo grupė 1;

FBLIM1 – (angl. Filamin-binding LIM protein 1) genas;

FRAP1 – (angl. Rapamycin Target Protein 1 group) genas;

G1 – gerai diferencijuotas navikas;

G2 – vidutiniškai diferencijuotas navikas;

G3 – blogai diferencijuotas navikas;

GCLC – (angl. Glutamate-Cysteine Ligase Catalytic Subunit) genas;

GSS – (angl. Glutathione synthetase) genas;

GSTO2 – (angl. Glutathione S-Transferase Omega 2) genas;

GSTP1 – (angl. Glutathione S-Transferase Pi 1) genas;

HR – (angl. Hazard Ratio) rizikos santykis;

IALT – (angl. International Adjuvant Lung Cancer Trial) tarptautinis adjuvantinis plaučių vėžio tyrimas;

IASLC – (International Association for the Study of Lung Cancer) tarptautinė plaučių vėžio tyrimų asociacija;

ITACA – (angl. International Tailored Chemotherapy Adjuvant Trial) tarptautinis taikinių chemoterapijos adjuvantinis tyrimas;

NCIC-JBR.10 – (angl. National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group and the National Cancer Institute of the United States Intergroup JBR.10) Nacionalinio Kanados Vėžio instituto klinikinių tyrimų grupė ir Nacionalinio Jungtinių Amerikos Valstijų jungtinė grupė JBR.10;

NER – nukleotidų ekscizijos reparacija;

NSPV – nesmulkiaūstelis plaučių vėžys;

NT5C2 – (angl. 5'-Nucleotidase, Cytosolic II) genas;

NVI – Nacionalinis Vėžio Institutas;

OR – (angl. Odds Ratio) šansų santykis;

PE – Platinos pagrindo su Etopozidu chemoterapijos schema;

PGR – (angl. PCR; Polymerase chain reaction) polimerazės grandininė reakcija;

PI – pasikliautinis intervalas;

RECIST – (angl. Response, evaluation criteria in solid tumors) solidinių navikų atsako vertinimo kriterijus;

RFIP – restrikcijos fragmento ilgio polimorfizmas;

RNR – ribonukleino rūgštis;

RRM1 – (angl. Ribonucleoside-diphosphate reductase subunit M1) ribonukleotidreduktazės grupė  
M1;

SLC29A1 – (angl. Solute Carrier Family 29 Member 1) genas;

SPSS – (angl. Statistical Package for the Social Sciences) statistinis paketas socialiniams mokslams;

ŠS – šansų santykis;

STMN1 – (angl. Stathmin) genas;

TMEM158 – ( angl. Transmembrane 158 gene) genas;

TNM (angl. tumor, node, metastazes) piktybinių navikų išplitimo įvertinimo sistema;

TUBB3 – (angl. Class III  $\beta$ -tubulin) III-os eilės  $\beta$ -tubulinas;

TYMS – (angl. thymidylate synthetase) timidilato sintetazė;

VUOI – Vilniaus universiteto Onkologijos institutas.



## Lentelių sąrašas

|   |    |
|---|----|
| Lentelė Nr. 1. Tyrimo ir gydymo schema. ....  | 46 |
| Lentelė Nr. 2. Plaučių vėžio TNM klasifikacija.....   | 48 |
| Lentelė Nr. 3. Sritinių limfinių mazgų klasifikacija.....   | 49 |
| Lentelė Nr. 4. Plaučių vėžio stadijavimas pagal TNM kriterijus. ....  | 52 |
| Lentelė Nr. 5. Ligonio būklės vertinimas pagal ECOG kriterijus.....   | 52 |
| Lentelė Nr. 6. Plaučių piktybinių navikų histologinių formų klasifikacija. ....   | 53 |
| Lentelė Nr. 7. Kiekybinei PGR atlikti naudoti pradmenys. ....   | 61 |
| Lentelė Nr. 8. PGR atlikti naudoti pradmenys ir sąlygos.....  | 63 |
| Lentelė Nr. 9. Pacientų pasiskirstymas pagal kliniškes charakteristikas.....  | 70 |
| Lentelė Nr. 10. ERCC1 ir RRM1 genų mažos ir didelės raiškos pasiskirstymas navike, kraujyje ir bronchų sekrete.....   | 72 |
| Lentelė Nr. 11. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos navike sąsaja su pacientų lytimi, amžiumi ir klinikinėmis patologinėmis charakteristikomis.....                              | 74 |
| Lentelė Nr. 12. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos navike ir sergančiųjų nesmulkiaūstelium plaučių vėžium kliniškes charakteristikų koreliacinė analizė.....                    | 75 |
| Lentelė Nr. 13. Sergančiųjų nesmulkiaūstelium plaučių vėžium pacientų ligos progresavimo tikimybės analizė pagal ERCC1 ir RRM1 genų raišką navike. ....                 | 76 |
| Lentelė Nr. 14. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos kraujyje sąsaja su pacientų lytimi, amžiumi ir kliniškes patologinėmis charakteristikomis.....                               | 78 |
| Lentelė Nr. 15. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos kraujyje ir sergančiųjų nesmulkiaūstelium plaučių vėžium kliniškes charakteristikų koreliacinė analizė pradedant gydymą..... | 79 |
| Lentelė Nr. 16. Sergančiųjų nesmulkiaūstelium plaučių vėžium ligos progresavimo tikimybės analizė pagal ERCC1 ir RRM1 genų raišką kraujyje pradedant gydymą.....        | 80 |

|  |     |
|--|-----|
| Lentelė Nr. 17. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos bronchų sekrete analizė priklausomai nuo sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų pradedant gydymą.....                 | 82  |
| Lentelė Nr. 18. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos bronchų sekrete ir sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų koreliacinė analizė. ....                                   | 83  |
| Lentelė Nr. 19. Sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu ligos progresavimo tikimybės analizė pagal ERCC1 ir RRM1 genų raišką bronchų sekrete. ....   | 84  |
| Lentelė Nr. 20. ERCC1 geno raiškos kraujyje 4 mėnesiai ir 12 mėnesių nuo gydymo pradžios analizė priklausomai nuo sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų.....    | 86  |
| Lentelė Nr. 21. ERCC1 geno raiškos kraujyje po 4 mėnesių ir po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios ir sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų koreliacinė analizė..... | 87  |
| Lentelė Nr. 22. Sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu ligos progresavimo tikimybės analizė pagal ERCC1 geno raišką kraujyje po 4 mėnesių ir po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios. ....        | 89  |
| Lentelė Nr. 23. RRM1 geno raiškos kraujyje 4 mėnesiai ir 12 mėnesių nuo gydymo pradžios analizė priklausomai nuo sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų.....     | 91  |
| Lentelė Nr. 24. RRM1 geno raiškos kraujyje po 4 mėnesių ir po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios ir sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų koreliacinė analizė.....  | 92  |
| Lentelė Nr. 25. Sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu ligos progresavimo tikimybės analizė pagal RRM1 raišką kraujyje po 4 mėnesių ir po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios.....               | 93  |
| Lentelė Nr. 26. ERCC1 (118 kodono C/T) geno polimorfizmo kraujyje analizė priklausomai nuo sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų.....                           | 96  |
| Lentelė Nr. 27. RRM1 (-37A→C) geno polimorfizmo kraujyje analizė priklausomai nuo sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų.....                                    | 98  |
| Lentelė Nr. 28. RRM1 (-524C→T) geno polimorfizmo kraujyje analizė priklausomai nuo sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų. ....                                  | 100 |

|   |     |
|---|-----|
| Lentelė Nr. 29. Sergančiųjų nesmulkialąsteliu plaučių vėžiu ligos koreliacinė analizė pagal ERCC1 (118 kodono C/T) geno polimorfizmą, RRM1 (-37A→C) geno polimorfizmą bei RRM1 (-524C→T) geno polimorfizmą. ....            | 101 |
| Lentelė Nr. 30. Sergančiųjų nesmulkialąsteliu plaučių vėžiu ligos progresavimo tikimybės analizė pagal ERCC1 (118 kodono C/T) geno polimorfizmą, RRM1 (-37A→C) geno polimorfizmą bei RRM1 (-524C→T) geno polimorfizmą. .... | 102 |
| Lentelė Nr. 31. Sergančiųjų nesmulkialąsteliu plaučių vėžiu pacientų išgyvenamumui įtakos turinčių veiksnių daugiaveiksniė analizė. ....  | 104 |

## Paveikslų sąrašas

|  |    |
|--|----|
| Paveikslas Nr. 1. Tyrimo ir gydymo schema. ....  | 45 |
| Paveikslas Nr. 2. Numeriais nuo 2-o iki 9-o pavaizduoti N2 lygio limfiniai mazgai, o numeriais nuo 10-o iki 14-o pavaizduoti N1 lygio limfiniai mazgai. ....   | 50 |
| Paveikslas Nr. 3. 5-u ir 6-u numeriais pavaizduoti aortopulmonalinio lango N2 lygio limfiniai mazgai.  | 51 |
| Paveikslas Nr. 4. Molekulinės diagnostikos metodikos schema. ....  | 57 |
| Paveikslas Nr. 5. PGR produktų analizė 1% agarozės gelyje. a) 1-5 takeliuose RRM1 176 bp PGR produktas, 7-11 takeliuose RRM1 217 bp produktas, 6 takelyje DNR ilgio standartas “pUC Mix Marker 8”; b) 1 takelyje DNR ilgio standartas “pUC Mix Marker 8”, 2-5 takeliuose ERCC1 PGR produktai....   | 63 |
| Paveikslas Nr. 6. PGR produktų analizė restrikcijos fragmentų ilgio polimorfizmo (RFIP) metodu 2% agarozės gelyje: a) 1 ir 7 takeliuose DNR ilgio standartas “pUC Mix Marker 8”, 2-6 takeliuose ERCC1 PGR produktų restrikcijos produktai; b) 1-3 takeliuose RRM1 (217 bp) PGR produktų restrikcijos produktai, 4 takelyje DNR ilgio standartas “GeneRuler 100bp DNA Ladder”; c) 2-4 takeliuose RRM1 (176 bp) PGR produktų restrikcijos produktai, 1 takelyje DNR ilgio standartas “GeneRuler 100bp DNA Ladder”..... | 65 |

# 1. Įvadas

## 1.1. Darbo aktualumas

Sergamumas plaučių vėžiu Lietuvoje ir pasaulyje didėja, reikalaujamas vis didesnių gydymo išlaidų. Lietuvoje (2012 metais) vyrų sergamumas plaučių vėžiu yra 81,5 atvejų 100 000 gyventojų [1] (lyginant su 57,1 / 100 000 atvejų 2003 metais [3]), atitinkamai moterų – 18,6 / 100 000 gyventojų [1] (lyginant su 6,8 / 100 000 atvejų 2003 metais [3]). Plaučių vėžys dažniausiai diagnozuojamas vyresniame amžiuje. Daugiau kaip pusė susirgimo atvejų registruojama vyresniems kaip 65 metų ligoniams. Nesmulkiąstelis plaučių vėžys sudaro apie 85%, o smulkialąstelis plaučių vėžys - 15% visų diagnozuotų plaučio vėžio atvejų. Apie 25% naujai diagnozuotų nesmulkiąstelio plaučio vėžio atvejų būna I-II stadijos, kitais atvejais, deja, nustatomas vietiškai ar atokiai išplitęs plaučių vėžys, kuomet chirurginis gydymas negalimas [1,5,6,8]. Europoje Lietuva užima III-ą vietą pagal plaučių vėžio susirgimo atvejus. Didžiausias sergamumas stebimas Šiaurės Amerikoje bei šiaurės ir Vakarų Europoje [2]. Mirtingumas nuo plaučių vėžio vyrams Lietuvoje siekia 80,4/100 000 gyventojų ir užima I-ą vietą tarp mirusių Lietuvoje nuo vėžio, atitinkamai moterų – 16,0/100 000 gyventojų ir užima IV-ą vietą. Ligonų 5 m. gyvenimo trukmė nepriklausomai nuo gydymo būdo, Lietuvoje siekia 9% atvejų, o pasaulyje – 15-20% atvejų [3]. Nuo plaučių vėžio mirštama dažniausiai iš visų sergančiųjų piktybiniais navikais, todėl prevencijai ir gydymui skiriama pabrėžtinai itin daug dėmesio [4,5]. Šiuolaikinė chemoterapija pasiekė savo ribas gydant III – IV stadijų nesmulkiąstelį plaučių vėžį ir, nepriklausomai nuo derinio bei vaistų sudėties, gydymo efektyvumas siekia 20%. Šiuo metu pažengusio nesmulkiąstelio plaučių vėžio standartiniu gydymu laikoma chemoterapija 5 metų išgyvenamumą suteikia apie 15% sergančiųjų [12]. Naviko progresavimas ir atsparumas gydymui yra didžiausios kliūtys nesmulkiąstelio plaučių vėžio gydymo rezultatų pagerinimui. Vėžio atsiradimą ir vystymąsi apsprendžia įvairaus pobūdžio pokyčiai molekuliniame lygyje, todėl pasitelkus molekulinę genetiką galima išsiaiškinti molekulinius pokyčius genuose, taip sukuriant naujus, individualius plaučių vėžio gydymo būdus, priklausomai nuo naviko genų raiškos.

Nustatytus pokyčius galima būtų panaudoti kaip molekulinis vėžio žymenis. Iššifruotas žmogaus genomą parodė, kad 99 proc. skirtingų asmenų DNR (deoksiribonukleino rūgštis) sutampa, o tik 1 proc. skiriasi, kuriame dažniausiai pasitaiko vieno nukleotido polimorfizmai. Farmakogenetiniai tyrimai rodo, kad šie maži pokyčiai DNR sekoje įtakoja individualų gydymo atsaką, toksiškumą gydymui ir išgyvenamumą sergantiesiems vėžiu [7]. DNR grandinėje nustatyti pokyčiai gali būti panaudoti kaip molekuliniai vėžio žymenys. Moksliniuose tyrimuose stebimi genų raiškos pokyčiai, nuo kurių priklauso individualaus gydymo efektyvumas. Pastaraisiais metais plačiai naudojamos biologiškai aktyvios medžiagos, taip vadinama taikinių terapija, gydant plaučių vėžį. Taikinių terapija yra perspektyvi individualizuojant gydymą ir parenkant tinkamiausią gydymo režimą siekiant padidinti efektyvumą ir sumažinti toksiškumą [15]. Jeigu nežinoma naviko genų raiška ir mutacijos, tai biologinė taikinių terapija yra neefektyvi [16-23]. Kadangi dauguma chemoterapinių preparatų iš dalies veikia DNR, todėl moksliniai tyrimai yra nukreipti ieškant žymenų, susijusių su DNR stabilumu ir DNR pažeidimų taisymo sistema. Kadangi mutacijos yra žalingos DNR grandinei, todėl DNR pažeidimų taisymo sistema yra gyvybiškai svarbios organizmo išgyvenimui. DNR pažeidimų taisymo sistema yra daugiapakopis procesas, kurio metu surandama DNR pažeidimai, ji pašalinama ir sintetinama normali DNR.

Šiuo metu platinos pagrindu taikoma chemoterapija, kartu naudojant citotoksinius vaistus (pvz.: Gemcitabiną, Vinorelbiną, Taxanus), yra pagrindinė gydomoji taktika gydant pažengusį nesmulkialąstelių plaučių vėžį. Deja, atsparumas chemoterapijai vis dar yra neįveikiamas iššūkis ir yra nepatenkinamo bendro išgyvenamumo rezultatas. Labai svarbu nustatyti molekulinis žymenis atsparumui chemopreparatams išaiškinti. Daugelis susidariusių DNR pažeidimų, taikant chemoterapiją platinos pagrindu, yra sutvarkomos NER (nukleotidų ekscizijos reparacija) keliu. NER kelias yra kompleksinis procesas, kuriame dalyvauja 16 fermentų, tarp jų yra pirmą kartą 1997 metais straipsnyje apie kiaušidžių vėžį publikuotas ERCC1 (iškirpimo atstatymo kryžminio papildymo grupė 1), koduojantis 5-ą NER endonukleazę ir yra vienas iš pagrindinių šio komplekso fermentų, būtinų platinos preparatais pažeistos DNR aduktų pašalinimui [9]. ERCC1 atsakingas už DNR pažeidimo atpažinimą ir nebūdingo DNR

struktūrai nukleotido pašalinimą [7], taip pat yra svarbus DNR pažaidų taisymui tarp gijų ryšių ir gijos ryšio viduje bei užkerta replikaciją ir transkripciją [24]. Vykstant nukleotidų ekscizijos reparacijai (NER) atpažįstamos netaisyklingos bazės ar nukleotidai, kurie pašalinami iš DNR struktūros. Šioje srityje iškerpamas DNR segmentas, o komplementari DNR grandinė naudojama kaip matrica naujam segmentui sintetinti. Cisplatina sukelia navikinių ląstelių citotoksiškumą suformuodama DNR pažaidas – aduktus, kurie sudaro kryžmines jungtis tiek DNR grandinėje, tiek tarp grandinių. NER sistema atpažįsta ir šalina šiuos aduktus. Jei NER sistemos genų raiška yra didelė ir DNR pažaidos navikinėse ląstelėse taisomos greitai, tuomet platinos pagrindo preparatai nesukelia laukiamo efekto [7,8]. Klinikiniai tyrimai rodo, kad didelė *ERCCI* geno raiška asocijuojasi su atsparumu platinos pagrindo chemoterapijai ir bloga prognoze gydant pažengusį nesmulkiaštelį plaučių vėžį dėl padidėjusios Platinos preparatų indukuotos DNR pažaidų reparacijos[9,11,13,24], tačiau susijusi su geresniais gydymo rezultatais tik chirurgiškai gydytiems ligoniams [25-27]. Pagal 2010 metais JAV patvirtintas NSPV (nesmulkiaštelio plaučių vėžio) klinikines praktines rekomendacijas *ERCCI* geno raiškos įvertinimas galėtų būti tiek prognostinis, tiek prediktinis žymuo [43]. Tačiau tyrimų rezultatai vis dar išlieka prieštaringi. Manoma, kad vieno nukleotido pakaitos DNR pažaidų taisymo sistemos genuose gali keisti šių genų raišką bei aktyvumą, įtakoti DNR pažaidų taisymo sistemos funkcijas, tokiu būdu veikiant ir vėžio gydymo terapijos efektyvumą. Tačiau ir *ERCCI* geno polimorfizmą tyrimai prieštaringi. Vieni tyrėjai rodo, kad *ERCCI* gene 118 kodone esantis polimorfizmas C/C galėtų būti prediktinis žymuo, parodantis geresnį išgyvenamumą sergantiesiems vėlyvesnių stadijų NSPV, kuriems taikyta chemoterapija cisplatina [44,45]. Tuo tarpu kiti tyrėjai nenustatė sąsajų tarp *ERCCI* gene 118 kodone esančio C/C polimorfizmo ir NSPV [46,47]. 2008 metais nustatytas *RRM1* (ribonukleotidreduktazės grupė M1) genas yra nustatytas 11p15.5 chromosomos segmente, kuris yra nesmulkiaštelio plaučių vėžio dažno heterozigotiškumo praradimo regionas. *RRM1* yra ribonukleotido reduktazės subvienetas ir specifinis kontrolės pagrindas ribonukleotido reduktazės įjungimo/išjungimo funkcijoje, reikalingas deoxynukleotido gamybai iš nukleozido difosfato [28] (taip dalyvaujant DNR sintezėje susintetinami DNR pirmtakai, kuriais

užpildomi grandinės tarpai, susidarę pašalinus aduktus [48]) ir yra vyraujantis ląstelinis veiksnys Gemcitabino, kaip nukleozido analogo efektyvumui, bei padaro deoxynukleotidą molekulinio taikiniu Gemcitabinui [10, 11, 29-34]. Be to, *RRM1* slopina karcinogenų sukeltą plaučių tumorogenezę eksperimentiniuose gyvūnų modeliuose, kurie turėtų būti padidėjusio DNR pažaidų taisymo talpos rezultatas pakilus *RRM1* [35]. Taip pat slopinamas tumoro progresavimas, ką rodo sumažėjusi ląstelių migracija ir invazija in vitro bei metastazių formavimasis pelių modelyje, dėl ko didėja gyvūnų išgyvenamumas [36,37]. Gydant pažengusį nesmulkiąstelių plaučių vėžį platinos preparatais su Gemcitabinu išgyvenamumo mediana yra apie 8,2-14,8 mėnesiai, 1 metų išgyvenamumas yra apie 38,1% - 41,2%. Gydant IV stadijos nesmulkiąstelių plaučių vėžį Gemcitabinu su Cisplatina ligoniams su maža *RRM1* ar *ERCC1* genų raiška išgyvenamumo mediana buvo 15 mėnesių didesnė lyginant su didele raiška, atsparumas Gemcitabinui asocijuotas su didele *RRM1* geno raiška, tačiau maža raiška siejama su greitesniu metastazių formavimusi sergant nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu [49]. *RRM1* yra pagrindas deoksiribonukleotidų biosintezėje, o didelė *RRM1* raiška susijusi su atsparumu Gemcitabinui [14]. Nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu sergantiems, kuriems atlikta chirurginė rezekcija be adjuvantinės chemoterapijos, ilgesnis išgyvenamumas stebėtas didelę *RRM1* geno raišką turintiems lyginant su mažos raiškos pacientais [38-40]. Nors egzistuoja nedidelis prieštaravimas apie ryšius tarp *ERCC1* ir *RRM1* genų dėl Platinos preparatų ir Gemcitabino veiksmingumo, tačiau nėra stebėtų reikšmingai susijusių ar yra stebėtų atvirkščiai susijusių pranešimų apie išgyvenamumą po radikalių chirurginių rezekcijų sergantiesiems nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu [41,42]. Didelė *ERCC1* bei *RRM1* genų raiška siejama su geresniu išgyvenamumu pacientams, sergantiems NSPV palyginus su tais pacientais, kuriems nustatyta maža *ERCC1* geno raiška, neatsižvelgiant į taikomos terapijos tipą. Iš predikcinės pusės didelė *ERCC1* geno raiška parodo, kad nebus gero atsako į chemoterapiją platinos preparatais, o didelė *RRM1* geno raiška parodo, kad nebus gero atsako į chemoterapiją gemcitabino preparatu. Vis dar nėra aišku kaip iš prognostinės bei predikcinės pusės *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška skiriasi tarp ankstyvųjų ir vėlyvųjų NSPV stadijų [43,50]. *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos tyrimai bronchų sekrete nėra aprašyti. Pooperacinis



ankstyvų stadijų nesmulkiąsteliu plaučių vėžio gydymas daugiausia pagrįstas platinos preparatų terapijos skyrimu, todėl svarbu atskirti neveiksmingą platinai grupę, taip ateityje progresavus ligai numatant gydymą be platinos preparatų. Virš 80% vietinių ligos atkryčių ar atsiradusių tolimų metastazių įvyksta per 1-2 metus po radikalaus chirurginio gydymo sergantiesiems I-III-os stadijos nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu. Vietinio ligos atsinaujinimo mediana yra 13,9 mėnesio lyginant su 12,5 mėnesio ligai atokiai progresuojant [53]. Tarptautinių klinikinių tyrimų IALT (2004 m.) (angl. International Adjuvant Lung Cancer Trial – tarptautinis adjuvantinis plaučių vėžio tyrimas), ANITA (2006 m.) (angl. Adjuvant Navelbine International Trialist Association –adjuvantinė Navelbino tarptautinė tyrėjų asociacija), NCIC-JBR.10 (2005 m.) (angl. National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group and the National Cancer Institute of the United States Intergroup JBR.10 – Nacionalinio Kanados Vėžio instituto klinikinių tyrimų grupė ir Nacionalinio Jungtinių Amerikos Valstijų jungtinė grupė JBR.10), CALGB (2004 m.) (angl. Cancer and Leukemia Group B – Vėžio ir Leukemijos grupė B) rezultatai parodo adjuvantinės platinos pagrindo chemoterapijos teigiamą poveikį gydant radikaliai chirurgiškai operuotus sergančiuosius IB-III A stadijų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu [118-121]. Atsižvelgus į jau atliktus klinikinius tyrimus, kai įtraukus *ERCC1* ir *RRM1* genus bei pagal jų raišką parinkus gydymą, gauti palankūs rezultatai [51,52] ir prieštarigus autorių duomenis tikslinga atlikti papildomus molekulinis tyrimus DNR pažaidų taisymo sistemos genų raiškai nustatyti planuojant naviko molekulinę diagnostiką, individualų ligonių pooperacinį gydymą, taip parenkant optimaliausią gydymo schemą po ligos progresavimo taikant chemoterapiją, siekiant geriausių gydymo rezultatų ir prognozuojant galimą tolesnę ligos eigą.

## 1.2. Darbo tikslas

- Įvertinti DNR pažaidų reparacijos sistemos genų *ERCCI* ir *RRMI* raiškos ir jų polimorfizmo reikšmę navike, kraujyje ir bronchų sekrete, numatant pacientų, sergančių IB – IIIA stadijų (T1aN0-1M0, T1bN0-1M0, T2aN0-1M0, T2bN0-1M0, T3N0-1M0 bei T1a-3N2(pavienių)M0) nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu, pooperacinį gydymą bei numatyti galimą ligos progresavimą ar atkrytį.

## 1.3. Darbo uždaviniai

1. Įvertinti *ERCCI* ir *RRMI* genų raiškos svarbą sergančiųjų ankstyvų stadijų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu laikui iki ligos progresavimo ar atkryčio po pooperacinio chemoterapinio gydymo.
2. Įvertinti *ERCCI* ir *RRMI* genų raiškos reikšmę po pooperacinio chemoterapinio gydymo ligos prognozei bei geresniam atsakui į gydymą.
3. Ištirti *ERCCI* ir *RRMI* genų polimorfizmus (*ERCCI* 118 kodono ir *RRMI* -37A→C ir -524C→T) sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu kraujyje, bronchų sekrete ir navike dėl galimos ligos progresavimo tikimybės.

## 1.4. Darbo naujumas

Sergamumas plaučių vėžiu Lietuvoje ir pasaulyje didėja. Europoje Lietuva užima III-ą vietą pagal plaučių vėžio susirgimo atvejus o didžiausias sergamumas stebimas Šiaurės Amerikoje bei šiaurės ir Vakarų Europoje. Mirtingumas nuo plaučių vėžio vyrams Lietuvoje siekia 80,4/100 000 gyventojų ir užima I-ą vietą tarp mirusių Lietuvoje nuo vėžio, atitinkamai moterų – 16,0/100 000 gyventojų ir užima IV-ą vietą. Ligonių 5 m. gyvenimo trukmė nepriklausomai nuo gydymo būdo, Lietuvoje siekia 9% atvejų, o pasaulyje – 15-20% atvejų. Šiuolaikinis gydymas radikali operacija ir adjuvantinė chemoterapija pasiekė savo nepriklausomai nuo vaistų derinio bei jų sudėties, gydymo efektyvumas siekia 20%. Naviko progresavimas ir atsparumas gydymui yra didžiausios kliūtys nesmulkiąsteliu plaučių vėžio gydymo rezultatų pagerinimui. Kadangi dauguma chemoterapinių preparatų veikia DNR, todėl moksliniai tyrimai

yra nukreipti ieškant žymenų, susijusių su DNR stabilumu ir DNR pažaidų taisymo sistema. Mutacijos yra žalingos DNR grandinei, todėl DNR pažaidų taisymo sistemos yra gyvybiškai svarbios organizmo išgyvenimui. Išanalizavus ir įvertinus DNR pažaidų taisymo sistemos genų raiškos tyrimus navike, kraujyje bei bronchų sekrete būtų planuojamas pacientų individualus pooperacinis gydymas bei gydymas po ligos progresavimo. Pasaulio literatūroje aprašomi klinikiniai tyrimai, kai įtraukus *ERCCI* ir *RRM1* genus bei pagal jų raišką parinkus gydymą gauti palankūs rezultatai. Vertinant *ERCCI* ir *RRM1* genų raišką navike ir kraujyje bei jų polimorfizmą autorių duomenys yra priešaringi, minėtų genų raiškos tyrimų skrepliuose nėra. Lietuvoje *ERCCI* ir *RRM1* genų raiškos tyrimai anksčiau atlikti nebuvo. Todėl parenkant optimaliausią gydymo schemą tikslinga atlikti *ERCCI* ir *RRM1* genų raiškos tyrimus.

### **1.5. Darbo praktinė nauda**

Atlikus DNR pažaidų taisymo sistemos tyrimus identifikuojant *ERCCI* ir *RRM1* raišką ir išanalizavus rezultatus – turėtų pagerėti pacientų individualus pooperacinis gydymas, aiškės ligos eigos progresavimo mechanizmai dėl galimo atsparumo adjuvantinei chemoterapijai ir po to sekančiam nesmulkiaūstelio plaučių vėžio progresavimui bei bus parenkama tikslesnė individualaus gydymo schema pagal minėtų genų raišką. Tuo būtų įmanoma pagerinti gydymo rezultatus – pailginti bendrą išgyvenamumą arba išgyvenamumo laiką iki ligos progresavimo, taip pat planuoti adekvatų gydymą atsiradus ligos progresavimui..

## 2. Literatūros apžvalga

### 2.1. ERCC1 ir RRM1 genų tyrimai eksperimentiniuose tyrimuose su bakterijomis, ląstelių kultūromis su medikamentais in vitro, kamieninėmis ląstelėmis, eksperimentiniais gyvūnėliais

Kadangi *ERCC1* ir *RRM1* genai bei jų koduojami baltymai dalyvauja DNR pažaidų atpažinime ir DNR grandinės atstatyme nepriklausomai nuo pirminės naviko lokalizacijos, atliekami eksperimentiniai tyrimai jų įtakai onkoprocui bei navikinio susirgimo gydymui įvertinti. Vare D. ir bendraautoriai (2012 m.) tyrinėjo *ERCC1* genų įtaką DNR pažeidimams su bakterijomis bei ląstelių kultūromis. DNR tarpigijinių saitų suardymas yra labai didelis grandinės pažeidimas, galintis sukelti negrįžtamus pokyčius DNR grandinėje su neįmanoma reparacija. Įvertinus atliktus tyrimus žinduolių ląstelėse DNR reparacijos procesas nėra iki galo aiškus, matomi prieštaringi duomenys. DNR replikacija vienodai blokuojama tiek laukinio tipo ląstelėse, tiek ir ląstelėse su nepakankama *ERCC1* raiška. Nustatyta, kad DNR reparacija sveikose žinduolių ląstelėse yra itin lėtas procesas, o navikinėse ląstelėse vyksta greičiau. [54]. Cho J. su bendraautoriais (2012 m.) tyrinėjo kamienines ląsteles. Per vieną dieną ląstelės patiria dešimtis tūkstančių DNR pažaidų, kuriuos sukelia endogeniniai ir egzogeniniai veiksniai. Dėl savo ilgąamžiškumo suaugusiųjų kamieninės ląstelės gali būti ypač jautrios šiam nuolatiniam neigiamam genotoksiniam poveikiui. Atlikus tyrimus su pelėmis nustatyta, kad mažėjanti *ERCC1* raiška tiesiogiai koreliuoja su progresuojančiu funkcionuojančių kraujodaros ir kamieninių ląstelių mažėjimu. Tai kartu skatina ląstelių mirtį, senėjimo markerių ekspresiją, DNR pažaidų išraišką per ląstelių autonominių mechanizmų funkcijos mažėjimą. Tai kartu didina preždegiminius citokinus kaulų čiulpuose. Šie duomenys pateikia naujoviškų įrodymų apie spontaninius endogeninius DNR pažeidimus, DNR pažaidų taisymą per ląstelių autonominius ir neautonominius mechanizmus [55]. Andrews TD. ir kiti (2011 m.) tyrė plaučių vėžio individualuoto gydymo svarbą atliekant naviko molekulinę analizę. Paimta medžiaga privalo būti mikrokopiškai supjaustoma 10 mikrometrų plonumo pjūviais navikinių ląstelių identifikavimui, RNR gavimui, naudojant atvirkštinės transkriptazės polimerazės grandininę reakciją *ERCC1* ir *RRM1*

išgryninimui [56]. He L. ir bendraautoriai (2012 m.) atliko eksperimentinį modelį ląstelių kultūras auginant su gydymui naudojamais medikamentiniais preparatais. Mėgintuvėlyje kultivuotos nesmulkiąstelių plaučių vėžio ląstelės su gydymui naudojamu preparatu emodinu, matuota *ERCCI* raiška. Emodinas stabdė nesmulkiąstelių plaučių vėžio ląstelių proliferaciją sukeldamas vakuolių degeneraciją. Didinant emodino dozę *ERCCI* raiška reikšmingai mažėjo. Tuo teigta, kad emodinas stabdo nesmulkiąstelių plaučių vėžio ląstelių proliferaciją mažindamas *ERCCI* raišką [57]. Barakat K. su bendraautoriais (2012 m.) nagrinėjo DNR pažaidas, atsirandančias dėl šiuolaikiniam priešvėžiniam gydymui naudojamos jonizuojančios radiacijos bei chemopreparatų, kurie taip sutrikdo genomą. Šie veiksniai neleidžia vėžinėms ląstelėms daugintis ir proliferuoti. Nepaisant to vėžinės ląstelės gali išgyventi dėl DNR taisymo sistemos veiklos ir taip panaikinti atsiradusias pažaidas vienoje grandinėje ar tarp grandinių ryšių. Atsižvelgiant į aukščiau išdėstytus teiginius DNR taisymo sistemos mechanizmas yra gyvybiškai svarbus taikyns norint padidinti priešvėžinio gydymo efektyvumą ir sumažinti atsparumą daugeliui DNR pažaidos veiksnių naudojant kaip priešvėžinį gydymą. DNR taisymo mechanizmai veikia per bazių iškirpimą ar nukleotidų iškirpimą iš pažeistos grandinės. DNR taisymo sistemoje aktyviai dalyvauja *ERCCI*, atliekantis nukleotidų iškirpimą iš pažeistos grandinės. Šiuo metu aktyviai ieškoma *ERCCI* veiklos inhibitorių siekiant pagerinti priešnavikinį gydymą [58]. Lu HY. su kitais (2012 m.) sprendė individualizuotą įvairių pažengusio nesmulkiąstelių plaučių vėžio histologinių ir biologinių tipų gydymą, kuris turėtų būti vedlys priešvėžinio gydymo eigoje. Priešvėžinių vaistų parinkimui molekuliniais kriterijams nustatyti, atsižvelgiant į genų raišką, atliekami daugybiniai tyrimai gydant nesmulkiąstelių plaučių vėžį. Atliekant tyrimus nustatyta daug genų, kaip vienas iš jų *ERCCI*, dalyvaujančių vėžinio proceso eigoje (DNR pažaidų atpažinimame ir jų iškirpime). Eksperimentiniuose modeliuose navikinėse ląstelėse nustatyta didesnė *ERCCI* raiška liaukiniu vėžiu sergantiesiems lyginant su sergančiaisiais plokščialąstelinio vėžiu. Šio geno pažinimas suteikia žinių apie molekulinis žymenis bei vilčių skiriant individualizuotą nesmulkiąstelių plaučių vėžio gydymą [59]. Yu Y. ir bendraautoriai (2012 m.) nagrinėjo gemcitabino ir vinorelbino poveikį pirmos eilės chemoterapijai gydant pažengusį

nesmulkialąstelį plaučių vėžį. Gydytas ne platinos preparatais yra palankesnis toksiškumo atžvilgiu ir geriau toleruojamas negu gydymas platinos preparatais. Atlikus *RRM1* neigiamos raiškos ir *ERCC1* teigiamos raiškos dispersinę analizę gydant ne platinos preparatais nustatytas ryšys, turintis nepriklausomą prognostinę reikšmę geresniam bendram išgyvenamumui [60]. Oguri T. Ir bendraautorai (2012 m.) aiškino citotoksinių nukleotidų analogų panaudojimą chemoterapijoje gydant nesmulkialąstelį plaučių vėžį. Eksperimentiniame modelyje atlikus molekulinį žymenų tyrimus su citozino arabinozei atspariomis eritroleukemijos ląstelėmis ir citozino arabinozei jautriomis mieloidinės leukemijos ląstelėmis nustatyta, kad *RRM1* raiškos sumažėjimas daugiau jautrus Gemcitabino poveikiui lyginant su kitų vaistų poveikiu. Taip pat *RRM1* raiškos sumažėjimas susijęs su gydymo kitais chemopreparatais pasikeitimu dėl metabolinių pokyčių molekulėse [61]. Wonganas P. su kitais (2012 m.) aprašė gemcitabino, kaip deoksicitidino analogo, poveikį įvairių solidinių auglių gydyme. Tačiau jo veiksmingumas vis dažniau yra mažesnis dėl besivystančio atsparumo. Atlikus tyrimus su pelėmis *in vitro* bei *in vivo* nustatyta, kad *RRM1* yra raktas, lemiantis atsparumą Gemcitabinui. Navikinės ląstelės su didele *RRM1* raiška sukelia atsparumą Gemcitabino citotoksiniam poveikiui. *RRM1* raiškos slopinimas yra efektyvi strategija atsparumą Gemcitabinui įveikti [62]. Pasqualetti G. ir bendraautorai (2011 m.) tyrinėjo plaučių vėžio, kuris yra vienas iš daugiausiai letalinę išėitį turinčių navikų, ląstelių kultūras. Nors standartinė chemoterapija duoda klinikinį atsaką, tačiau mažai gerina prognozę. Tirtos žmogaus plaučių vėžio ląstelių kultūros A549, CALU-1, CALU-6, H23 ir HCC 827. Taikant nesmulkialąstelio plaučių vėžio gydymą Gemcitabinu su Sorafenibu indukuojama ląstelių apoptozė ir moduluojama *RRM1* geno raiška [63].

## **2.2. ERCC1 ir RRM1 genų tyrimai, nesusiję su plaučių vėžiu**

McNeil EM. Melton DW. (2012 m.) tyrė *ERCC1* geną, kuris sietinas su įvairių navikų gydymo platinos preparatais atsaku, taip pat tikslinga tirti šio geno polimorfizmą geresniam naviko atsakui į gydymą gauti, kadangi atsparumas chemoterapijai yra dažna gydymo nesėkmės priežastis. Daug tyrimų skirta DNR taisymo sistemos genų ir vėžio atsiradimo polimorfizmui nustatyti, nes tiksli ir veiksmingas

DNR taisymas svarbus genomo vientisumui išlaikyti. Įvairių vėžinių susirgimų metu didelės raiškos *ERCC1* susijęs su blogu atsaku į gydymą chemoterapija Platinos preparatais. Yra kuriami DNR taisymo inhibitoriai, kurių taikiniai yra ERCC1-XPF baltymo komplekso aktyvumas, stabilumas ar baltymų sąveika. Šių inhibitorių pagalba tikimasi naujos gydymo strategijos atsparumo chemoterapijai išvengti [64]. Hao T. su bendrautoriais (2012 m.) tyrė osteosarkoma sergančiuosius. *ERCC1* genas tirtinas ligoniams, sergantiems osteosarkoma. Nustatyta, kad *ERCC1* geno variantas T/T buvo statistiškai reikšmingai susijęs su geresniu išgyvenamumu lyginant su laukinio tipo C/C variantu (PI (CI) 95%), OR 0,39 (0,14-0,95). Tačiau nebuvo rasta statistiškai reikšmingos koreliacijos tarp *ERCC1* geno polimorfizmo ir osteosarkomos prognozės. *ERCC1* geno T/T variantas gali būti taikomas kaip žymuo osteosarkomų gydyme platinos preparatais [65]. Fu JM. ir kiti (2012 m.) tyrė *ERCC1* geną sergančiosioms krūties vėžiu. Nagrinėtas Emodino poveikis rezistentiškumui chemoterapijai įvertinant pagal ERCC1 baltymo raišką gydant krūties vėžį, tirtas ryšys tarp atsparumo vaistams atsistatymo ir ERCC1 baltymo raiškos santykio. Emodino įtraukimas į ląsteles leido rezistentiškumą vaistams sumažinti iki 10 kartų, ERCC1 baltymo raiška palaipsniui mažėjo [66]. Mojgan H. ir kiti (2012 m.) tyrė sergančiąsias krūties vėžiu ir nustatė, kad ERCC1 baltymas yra svarbus DNR nukleotidų iškirpimo taisymui krūties vėžiu sergančioms moterims. Ši grupė lyginta su sveikomis moterimis kontrolinėje grupėje. *ERCC1* geno TT variantas nustatytas dažniausiai. *ERCC1* genotipas yra svarbus faktorius (GG/AA šansų santykis 0,692, 95% PI (CI): 0,4-1,199, p 0,188; GG/AG šansų santykis 3,333, 95% PI: 1,917-5,795, p 0,001; AA/AG šansų santykis 0,208, 95% PI: 0.124-0.348, p 0.342) [67]. Kao SC. ir bendraautoriai (2012 m.) aprašė *ERCC1* geno raiškos įtaką ilgesniam išgyvenamumui sergantiesiems piktybine (epitelioidine ir bifaze) pleuros mezotelioma bei gydytiems atliekant ekstrapleurinę pulmonektomiją. ERCC1 baltymo raiška buvo vertinta imunohistocheminiu metodu. Bendro išgyvenamumo mediana yra 18,2 mėnesio. 35% nustatyta išreikšta *ERCC1* raiška. Didelę *ERCC1* geno raišką turintys ligoniai turi tendenciją ilgesniam bendram išgyvenamumui lyginant su maža *ERCC1* raiška (27,6 lyginant su 10,3 mėnesių, p 0,06), nors tai nėra statistiškai patikimi duomenys [68]. Zimling ZG. ir kiti (2012 m.) tyrė piktybinės pleuros mezoteliomos

gydymo efektyvumo pagerinimą. Tirtas *ERCC1* geno poveikis gydant Cisplatina su Vinorelbinu. Nustatytos 2 grupės: atspari gydymui teigiama *ERCC1* grupė bei pasiduodanti gydymui neigiama *ERCC1* grupė. Nustatyta, kad neigiama *ERCC1* raiška ligoniams turėjo statistiškai patikimai ilgesnį laiką iki ligos progresavimo (6,7 mėnesio teigiamoje *ERCC1* grupėje lyginant su 15,3 mėnesio neigiamoje *ERCC1* grupėje,  $p = 0,03$ ), atlikus multivariacinę analizę gydymui atsparioje grupėje (teigiama *ERCC1* raiška) lyginant su gydymui pasiduodančiais (neigiama *ERCC1* raiška) laikas iki ligos progresavimo buvo mažesnis (HR 6.45, CI 95 % [2.02-20.64]  $p = 0.002$ ), bendras išgyvenamumas taip pat mažesnis (HR 4.64, CI 95 % [1.56-13.79],  $p = 0.006$ ) [69]. Erčulj N. ir kiti (2012 m.) aprašė biologinių žymenų identifikavimą, leidžiantį individualizuoti gydymo Gemcitabinu efektyvumą ir toksiškumą piktybinės mezoteliomos gydyme pagal *RRM1* polimorfizmą. Dvinarė logistinė regresija naudota pasirinkto polimorfizmo tumore atsakui ir su gydymu susijusiam toksiškumui, o jų įtaka išgyvenamumui vertinta pagal Cox proporcinės regresijos modelį. Atlikus multivariacinę analizę *RRM1* 2927A>C polimorfizmas reikšmingai sumažino bendro išgyvenamumo tikimybę ( $p = 0,021$ ). *RRM1* polimorfizmai -524T>C ir -37C>A sumažino pykinimo ir vėmimo  $\geq 2$  toksiškumo laipsnio šansus (atitinkamai  $p = 0,002$  ir  $p = 0,003$ ). *RRM1* TTCCA potipis buvo susijęs su blogesniu naviko atsaku ( $p = 0,004$ ) ir bendru išgyvenamumu ( $p = 0,003$ ) lyginant su dažniausiai sutinkamu TTCAA *RRM1* potipiu. O TCACA potipis įtakoja pykinimo ir vėmimo  $\geq 2$  toksiškumo laipsnio šansus ( $p = 0,001$ ) [70]. Wang Z. (2012 m.) aprašė *ERCC1* geno polimorfizmo įtaką skrandžio vėžiu sergančiųjų ir gydytų chemoterapija pagal schemą Platinos preparatas su 5-FU rezultatams, nors duomenys yra priešaringi ir toliau svarstyti. Nebuvo nustatytas statistiškai patikimas ryšys tarp *ERCC1* geno polimorfizmo ir atsako į gydymą, nors šis genas glaudžiai susijęs su klinikiniais rezultatais [71]. Bišof V. ir kiti (2012 m.) atliko *ERCC1* geno raiškos tyrimus prognostinei vertei nustatyti sergantiesiems galvos ir kaklo navikais bei gydytiems spinduline terapija (didelė *ERCC1* raiška nustatyta 48% tirtų ligonių). *ERCC1* raiškos dydis neturėjo prognostinės vertės gydymui ir bendram išgyvenamumui ( $p = 0,16$ ) [72]. Johung K. ir bendraautoriai (2012 m.) aprašė prognostinę *ERCC1* raiškos įtaką sergantiesiems gerklų vėžiu gydant tik spinduline terapija. Didelė *ERCC1* raiška yra predikcinis atsparumo chemoterapijai arba



chemoradioterapijai platinos preparatais žymuo. Nenustatyta statistiškai patikimo ryšio tarp *ERCCI* raiškos ir bendro išgyvenamumo ( $p$  0,65), vietinio recidyvo atsiradimo ( $p$  0,78). Todėl spindulinė terapija gali būti sėkmingas gydymo metodas didelę *ERCCI* raišką turintiems ligoniams [73]. Huang PY. ir bendraautorai (2012 m.) nustatė *ERCCI* raiškos santykį su gydymo atsaku gydant platinos pagrindo indukcinę chemoterapiją nazofaringinę karcinomą. Gydymo atsakas indukciniai chemoterapijai statistiškai patikimai geresnis mažos *ERCCI* raiškos lyginant su didelės *ERCCI* raiškos ligoniais ( $p$  0,041). 5 metų išgyvenamumas be ligos progresavimo statistiškai patikimai geresnis mažos *ERCCI* raiškos lyginant su didelės *ERCCI* raiškos ligoniais ( $p$  0,037). *ERCCI* raiška yra reikšmingas prognostinis rodiklis bendram išgyvenamumui naudojant Cox'o regresinę analizę. Didelė *ERCCI* raiška nulemia mažą atsaką chemoterapijai ir blogą išgyvenamumą dėl atsiradusių vietinių metastazių gydant pažengusią nazofaringinį vėžį platinos pagrindo indukcinę chemoterapiją [74]. Zhao LP. su bendraautoriais (2012 m.) tyrė nazofaringinę karcinomą sirgusių ligonių ir gydytų Gemcitabino pagrindo chemoterapija *RRMI* raišką. *RRMI* teigiama raiška stebėta 35 procentams sergančiųjų. *RRMI* raiška nebuvo susijusi su lytimi, amžiumi, bendra būkle, histologiniu tipu, atokiomis metastazėmis, prieš tai buvusiu gydymu, gemcitabino pagrindo chemoterapijos ciklų skaičiumi ( $p > 0,05$ ). Išgyvenamumas iki ligos progresavimo *RRMI* teigiamos raiškos grupėje buvo trumpesnis negu *RRMI* neigiamos raiškos grupėje ( $p$  0,036). Tačiau reikšmingo patikimumo tarp abiejų grupių vidutiniam išgyvenamumui nestebėta ( $p$  0,54). *RRMI* neigiama raiška duoda tik ilgesnį laiką iki ligos progresavimo nazofaringinė karcinoma sergantiems ir gydytiems Gemcitabino pagrindo chemoterapija, tačiau nepagerina bendro vidutinio išgyvenamumo [75]. Chen DQ. ir kiti (2012 m.) tyrė *ERCCI* polimorfizmą sergančiųjų galvos smegenų glioma išgyvenamumui ir jautrumui įvertinti. *ERCCI* 118C/T ir *ERCCI* 8092C/A polimorfizmas neparodė statistiškai patikimo skirtumo tarp sergančiųjų glioma atvejų ir kontrolinės grupės. *ERCCI* 118T/T polimorfizmas reikšmingai didina vidutinį išgyvenamumą lyginant su *ERCCI* C/C polimorfizmu (HR=0.67, 95% PI(CI)=0.35-0.96) taip gerindamas prognozę [76]. Ozcan MF. ir bendraautorai (2012 m.) teigė, kad *ERCCI* vaidina pagrindinį vaidmenį platinos preparatų indukuotų DNR aduktų pašalinimui ir rezistencijai cisplatinai

įvairių lokalizacijų karcinomoms. Tirta *ERCCI* raiška, kaip prognostinis faktorius gydant šlapimo pūslės vėžį platinos pagrindo neoadjuvantine chemoterapija. Atlikta multivariacinė Cox regresijos analizė: patologinis pilnas atsakas po chemoterapijos (HR 0.1, 95% CI 0.012-0.842,  $p = 0.034$ ) ir didelė *ERCCI* raiška (HR 3.7, 95% CI 1.2-11.2,  $p = 0.019$ ) statistiškai patikimai asocijuojasi su išgyvenamumu iki ligos progresavimo. Ligoniams virš 60 metų lyginant su mažiau 60 metų (HR 3.4, 95% CI 1.2-9.4,  $p = 0.018$ ) patologinis pilnas atsakas į gydymą (HR 0.11, 95% CI 0.014-0.981,  $p = 0.048$ ) ir didelė *ERCCI* raiška (HR 6.1, 95 CI 1.9-19.9,  $p = 0.002$ ) statistiškai patikimai asocijuojasi su bendru išgyvenamumu. *ERCCI* gali būti potencialus prediktinis žymuo šlapimo pūslės vėžiu sergančiuosius gydant platinos pagrindo preparatais [77]. Li S. ir bendraautorai (2014 m.) atliko *ERCCI* raiškos metaanalizę sergantiems pažengusių šlapimo pūslės vėžiu ir gydytiems platinos pagrindo chemoterapija. Didelė *ERCCI* raiška buvo nustatyta 38,8% sergančiųjų, maža *ERCCI* raiška atitinkamai – 61,2%. Vidutinis bendras išgyvenamumas statistiškai reikšmingai ilgesnis buvo mažą *ERCCI* raišką turintiems lyginant su didelę *ERCCI* raišką turintiems (hazard ratio 0.69, 95% CI 0.54-0.89,  $p = 0.004$ , ir hazard ratio 0.76, 95% CI 0.66-0.89,  $p = 0.000$ , atitinkamai). [78]. Kawashima A. ir kiti (2012 m.) taip pat aprašė santykį tarp klinikinio atsako į gydymą ir *ERCCI* raiškos taikant neoadjuvantinę chemoterapiją šlapimo pūslės vėžio gydymui. *ERCCI* raiška negali būti kaip predikcinis patologinis žymuo atsakui į gydymą ( $p = 0,202$ ), tačiau galima statistiškai patikimai remtis kaip predikciniu žymeniu išgyvenamumui iki ligos progresavimo ( $p = 0,029$ ) ir bendram išgyvenamumui ( $p = 0,04$ ) [79]. Doll CM. ir kiti (2012 m.) aprašė *ERCCI* raišką sergančioms vietiškai išplitusiu gimdos kaklelio vėžiu bei *ERCCI* raiškos santykį su gydymo rezultatais. Vertinta *ERCCI* raiškos įtaka bendram išgyvenamumui ir išgyvenamumui iki ligos progresavimo. Nustatyta, kad *ERCCI* raiška susijusi su bendru išgyvenamumu (HR 3.13 [1.27-7.71],  $p = 0,013$ ) ir išgyvenamumu iki ligos progresavimo (HR 2.33 [1.05-5.18],  $p = 0,038$ ), tačiau nebuvo statistiškai patikima taikant dispersinės analizės modelį. Tuo galima teigti, kad *ERCCI* raiška kaip prognostinis žymuo taikytinas tik vienaveiksneje analizėje [80]. Marechal R. su bendraautorais (2012 m.) aprašė: ligoniams po operacijų dėl kasos lataų adenokarcinomos dažniausiai reikia papildomo gydymo

Gemcitabinu, kurio veiksmingumas priklauso nuo *RRM1*. Ligoniams be adjuvantinės chemoterapijos *RRM1* raiška nebuvo susijusi su išgyvenamumu [81]. Valsecchi ME. su bendraautorais (2012 m.) nagrinėjo *RRM1* ir *ERCC1* raišką kasos navike, nerasta reikšmingo ryšio tarp imunohistocheminiu būdu nustatytos didelės ir mažos raiškos *RRM1* ir *ERCC1* bei bendro išgyvenamumo (p 0,05 ir p 0,83 atitinkamai), realaus laiko PGR nustatytos genų raiškos ir bendro išgyvenamumo (p 0,21 ir p 0,39 atitinkamai). Panašūs rezultatai nustatyti ir vertinant išgyvenamumą iki ligos progresavimo. Tuo galima teigti, kad *RRM1* ir *ERCC1* raiška nėra predikcinis ar prognostinis faktorius kasos vėžio gydymui [82].

### 2.3. *ERCC1* ir *RRM1* genų tyrimai sergantiesiems plaučių vėžiu

Sakoda LC. su bendraautorais (2012 m.) aptarė *ERCC1* baltymo reikšmę DNR taisymo sistemoje tarp rūkančiųjų. Šis baltymas dalyvauja iškerpant pažeistą nukleotidą iš DNR grandinės. Nukleotidų iškirpimo reparacija, dalyvaujant *ERCC1* genui, yra pirmiausia atsakinga už tabako rūkymo sukeltą kvėpavimo takų DNR pažeidimų aptikimą bei jų pašalinimą, vieno nukleotido polimorfizmą. Tai įtakoja plaučių vėžio rizikos padidėjimą [83]. Suwinski R. ir kiti (2012 m.) tiriant *ERCC1* geną atlikus multivariacinį Cox regresijos modelį nustatė statistiškai reikšmingą klinikinės stadijos (p<0,001), *ERCC1* raiškos (p 0,01) įtaką bendram išgyvenamumui sergantiems nesmulkiaštelium plaučių vėžiu [6]. Olausson KA. ir bendraautorai jau 2006 metais nustatė, kad sergančių nesmulkiaštelium plaučių vėžiu, kuriems identifikuota didelė *ERCC1* raiška, bendras išgyvenamumas siekė 55 mėnesius palyginus su tais pacientais, kuriems identifikuota maža *ERCC1* raiška ir bendras išgyvenamumas siekė tik 42 mėnesius [9]. Lord RV. ir kiti 2002 metais retrospektyviniame tyrime tarp sergančiųjų pažengusiu nesmulkiaštelium plaučių vėžiu ir gydytiems gemcitabino ir cisplatinos terapija nenustatė sąsajos tarp *ERCC1* raiškos ir atsako į terapiją, tačiau bendras išgyvenamumas buvo geresnis mažos *ERCC1* raiškos pacientų grupėje (14,2 mėn.) palyginus su didelės *ERCC1* raiškos pacientų grupe (4,7 mėn.) [84]. Planchard D. ir bendraautorai 2009 metais tyrė sergančių rezektabilia plaučių adenokarcinoma rūkymo būseną ir *ERCC1* raiškos lygį. Buvo nustatyta, kad *ERCC1* geno raiškos lygis niekada nerūkiusių yra didesnis lyginant su

rūkiusiais. Taip pat nustatyta, kad rūkymo būseną yra predikcinis veiksnys *ERCC1* geno raiškos lygiui [85]. Postel-Vinay S. su bendraautoriais (2012 m.) teigė, kad didelis *ERCC1* ekspresijos lygis gali būti viena iš priežasčių naviko atsparumui chemopreparatams. *ERCC1* atsakingas už platinos įtakoto DNR adukto atpažinimą ir iškirpimą iš grandinės, taip potencialiai gali būti laikomas predikciniu ir prognostiniu markeriu gydant nesmulkiąstelių plaučių vėžį chemoterapija platinos pagrindu. Gydant nesmulkiąstelių plaučių vėžį, taikantis į DNR taisymo sistemą, ypatingas dėmesys kreipiamas į *ERCC1* bei *RRM1* genus, kurių raiška įtakoja gydymo platinos preparatais, taksanais, gemcitabinu rezultatus [86]. Zhang L. ir kiti (2011 m.) teigė, kad nesmulkiąstelių plaučių vėžio klinikinių charakteristikų bendrumas su genų raiška yra aiškinimosi eigoje; *ERCC1*, *RRM1*, *TYMS*, *TUBB3*, *STMN1* genai dalyvauja esminiuose naviko fiziologiniuose procesuose, kaip DNR sintezė, DNR taisymas ir mitozė. Šie genai yra predikciniai jautrumo chemoterapijai žymenys sergantiesiems nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu. Tinkama genų raiškos dydžio analizė yra raktas individualizuoto gydymo parinkimui [87]. Ludovini V. su bendraautoriais (2011 m.) nustatė, kad genetiniai pokyčiai vaistų metabolizme gali turėti įtakos klinikiniam atsakui, toksiškumui ir prognozei Platinos ir Gemcitabino terapija gydant sergančiuosius nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu. *ERCC1* C118T, *RRM1* C524T ir kiti genai tiriami naudojant realaus laiko PGR reakciją kraujo DNR tyrimams. Nebuvo įrodyta statistinio patikimumo gydymo atsakui, nehematologiniam toksiškumui, ilgesniam išgyvenamumui be ligos progresavimo [88]. De Andrade M. ir bendraautoriai aprašė, kad lėtinė obstrukcinė plaučių liga yra stiprus rizikos veiksnys susirgti plaučių vėžiu. Identifikuoti *GCLC*, *GSS*, *GSTO2*, *ERCC1* ir *RRM1* genai, kurie 2,3 karto didina riziką susirgti plaučių vėžiu sergant obstrukcine plaučių liga lyginant su neturinčiais šių genų sergant obstrukcine plaučių liga [89]. Rybarova S. su bendraautoriais (2012 m.) aprašė, kad *ERCC1* baltymas adenokarcinomoje sudaro 64,5%, plokščialąsteliniam vėžyje 62,5%. Didelė *ERCC1* raiška didina gydymo platinos preparatais rezistentiškumą tiek liaukiniam vėžiui, tiek ir plokščialąsteliniam vėžiui. Tačiau *ERCC1* raiškos dydis nekoreliuoja klinikiniais parametrais, todėl ateityje gali būti taikomas kaip nepriklausomas prognostinis faktorius gydant nesmulkiąstelių plaučių vėžį [90]. Sodja E. su bendraautoriais (2012 m.) tyrinėjo

smulkialąstelį plaučių vėžį. Nors *ERCCI* yra plačiai tiriamas molekulinis žymeklis nesmulkiąsteliu plaučių vėžiui bei sumažinantis jautrumą gydymui chemoterapija platinos preparatais, tačiau atliekami tyrimai ir su smulkialąsteliu plaučių vėžiu. Teigiamą *ERCCI* raišką tyrime nustatyta 51,9% tirtųjų, tačiau duomenys apie prognozinę ir predikcinę *ERCCI* vertę gydant smulkialąstelį plaučių vėžį yra riboti dėl tyrimų stokos. Statistiškai reikšmingas ryšys tarp *ERCCI* raiškos ir gydymo atsako į pirmos eilės chemoterapiją platinos preparatais, išgyvenamumą iki ligos progresavimo, bendrą išgyvenamumą pagal ligos stadijas nenustatytas [91]. Feng J. su bendraautorais (2009 m.) nagrinėjo *RRMI* geno polimorfizmą. Yra dvi vieno nukleotido pakaitos *RRMI* promotorinėje srityje -37C→A ir -524C→T, turinčios įtakos šio geno raiškai. Sergančių nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu ir gydytų platinos pagrindo chemoterapija atsakas į gydymą buvo geresnis tų pacientų, kuriems identifikuotas -524CT genotipas. Tačiau nenustatyta jokių sąsajų tarp -37C→A polimorfizmo ir gydymo atsako [92]. Tuo tarpu Dong S. su bendraautorais (2010 m.) kitame tyrime aprašė, kad -37C→A polimorfizmas susijęs su berecidiviu ligos periodu [93]. Sereno M. su bendraautorais nustatinėjo smulkialąstelio plaučių vėžio, kaip agresyviausio plaučių vėžio potipio, ryšį su *ERCCI* geno raiška. Standartinis gydymas pradedamas platinos preparatais. *ERCCI* pašalina platinos indukuotus DNR aduktus ir gali būti siejamas su prognoze bei atsaku į gydymą. Nustatyta reikšminga asocijacija tarp *ERCCI* raiškos ir prasto atsako į gydymą platinos preparatais (p 0,001). Maža *ERCCI* raiška reikšmingai asocijuojasi su geresniu išgyvenamumu iki ligos progresavimo (p 0,009) ir gali būti naudojama kaip predikcinis bei prognozinis žymuo atsakui į gydymą platinos preparatais sergantiems smulkialąsteliu plaučių vėžiu [94]. Monica V. su bendraautorais (2012 m.) tyrinėjo *ERCCI* raiškos reikšmę kartu su kitais molekuliniais žymenimis, tame tarpe su estrogenų receptorių raiška. Maža estrogenų ir *ERCCI* raiška ir/ar maža beta estrogenų receptorių raiška statistiškai reikšmingai gerina smulkialąstelio ir nesmulkiąstelio plaučių vėžio gydymo rezultatus (p 0,03) [95]. Wei HB. su bendraautorais (2012 m.) atliko 11-os tyrimų metanalizę ir išryškino *ERCCI* polimorfizmą bei bendrą atsako dažnį. Nustatyta, kad jautrumas Platinos pagrindo chemoterapijai reikšmingai susijęs su *ERCCI* C118T polimorfizmu. *ERCCI* C118T heterogeniškumo testas buvo padarytas ( $\chi^2$  13,41, p 0,1), šansų

santykis (OR) laukinio tipo C/C genotipui lyginant su heterozigotinių C/T ir T/T genotipais buvo 1.50 (95% CI 1.09 - 2.06, p = 0.01). Kituose tyrimuose šansų santykis (OR) laukinio tipo C/C genotipo lyginant su heterozigotinių C/T ir T/T genotipais buvo 2.30 (95% CI 1.44 - 3.68, p = 0.0005). Šis biologinis žymuo gali tarnauti kaip paprastesnis ir mažiau invazinis individualizuojant chemoterapiją Platinos pagrindo priešvėžiniais medikamentais [96]. Mohammed AEL S. su bendraautorais (2012 m.) teigia, kad iki šiol tikslių molekulinų žymenų, galinčių prognozuoti nesmulkiąstelių plaučių vėžio gydymo atsaką, nenustatyta. Tokiais gali būti *GSTP1*, *ERCC1*, *BRCA1*, *FRAP1*, *RRM1*, *FBLP1*, *TMEM158*. Atlikus tiesinę regresiją statistiškai patikimai nustatyta tik *FBLP1*, *TMEM158* teigiama asociacija su nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu. Maža *TMEM158* raiška statistiškai reikšmingai susijusi su atsparumo sumažėjimu gydant platinos preparatais (p<0,0001), o didelė *FBLP1* raiška sustiprina atsparumą gydymui platinos preparatais (p 0,001). Šiuo metu pasaulyje atliekami išplėstiniai minėtų genų tyrimai [97]. Gao Z. su bendraautorais (2011 m.) aprašė *ERCC1* geną, kuris siejamas su atsparumu gydymui Platinos preparatais gydant sergančius pažengusiu nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu. *ERCC1* baltymo lygis tirtas tarp standartinio gydymo grupės ir individualizuoto gydymo grupės. Standartinės grupės ligoniai gydyti pagal schemas Gemcitabinas su Cisplatina arba Vinorelbinas su Cisplatina. Individualizuotos grupės ligoniai, kuriems nustatyta maža *ERCC1* geno raiška, gydyti pagal schemas Gemcitabinas su Cisplatina bei Vinorelbinas su Cisplatina, o didelės *ERCC1* geno raiškos ligoniai gydyti pagal schemą Gemcitabinas su Vinorelbinu. Vertinti atsako į gydymą dažnis, bendras išgyvenamumas, laikas iki ligos progresavimo. Statistiškai patikimai (p 0,036) skyrėsi vidutinė gyvenimo trukmė tarp grupių: ilgesnė individualizuoto gydymo grupėje (13,59 mėnesio, 95% PI(CI) 11.86-14.74) lyginant su standartinio gydymo grupe (10,10 mėnesio, 95% PI(CI) 8,48-11,92). Tačiau *ERCC1* geno raiška gydant pažengusį nesmulkiąstelių plaučių vėžį nėra reikšmingai koreliuojama su atsaku į gydymo dažnį, bendrą išgyvenamumą bei laiką iki ligos progresavimo individualizuoto gydymo grupėje. Todėl *ERCC1* geno raišką tikslinga tirti su papildomais molekuliniais žymenimis siekiant pagerinti individualizuoto gydymo rezultatus [98]. Zhang ZY. su bendraautorais aprašė *ERCC1* vaidmens atsaką į chemoterapiją gydant sergančiuosius nesmulkiąsteliu

plaučių vėžiu ir nustatė jo prieštarumą. Tirtiesiems DNR genomas gautas iš periferinio kraujo, polimorfizmas nustatytas realaus laiko PGR metodu. Vidutinis stebėjimo laikas buvo 31,6 mėnesiai. *ERCC1* 118T/T polimorfizmas (HR=1.65, 95% CI=1.17-2.43) susijęs su padidėjusia mirties rizika sergant nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu. *ERCC1* 118 T alelis didina mirties riziką nuo nesmulkiąstelio plaučių vėžio tiek rūkantiems, tiek ir metusiems rūkyti. *ERCC1* geno polimorfizmai gali suteikti geresnę predikcinę informaciją nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu sergantiesiems [99]. Kotoula V. su bendraautoriais (2012 m.) teigė, kad *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška intensyviai tyrinėjama atsižvelgiant į nesmulkiąstelio plaučių vėžio gydymo įvairiais chemopreparatais rezultata. Ilgesnis išgyvenamumas iki ligos progresavimo stebėtas gydant Taxanais lyginant su platinos preparatais (HR=0.234, 95% PI(CI):0.108-0.506, p<0.0001), ir su Taxanais/Platinos preparatais (HR=0.242, 95% PI(CI):0.131-0.447, p<0.0001). Kol kas šie žymenys dar netaikomi rutiniškai, nes nėra vienareikšmio standartinio požiūrio į didelės ar mažos mikroRNR ekspresijos klasifikaciją. MikroRNR nesusijusi su bendru išgyvenamumu ir su išgyvenamumu iki ligos progresavimo [100]. Ren S. su bendraautoriais (2012 m.) tyrė *ERCC1* raiškos ryšį su EGFR ir ALK mutacijomis niekada nerūkiusioms moterims ir sergančioms plaučių adenokarcinoma. Nustatyta, kad esant EGFR ir ALK mutacijoms *ERCC1* raiška naviko audinyje yra mažesnė, negu nesant minėtų mutacijų (p 0,01), o tai gerina gydymo rezultatus [101]. Das M. su bendraautoriais (2012 m.) nustatė, kad *ERCC1* raiška gali būti nustatoma kraujyje cirkuliuojančiose naviko ląstelėse ir naudojama kaip predikcinis žymuo gydant platinos preparatais metastazavusį nesmulkiąstelį plaučių vėžį. Augant *ERCC1* raiškai statistiškai patikimai mažėjo ligonių išgyvenamumas iki ligos progresavimo (p<0,04, F-testas, tiesinė regresija). *ERCC1* sumažėjimas asocijavosi su ilgesniu išgyvenamumu iki ligos progresavimo (p<0,02), Kaplan-Meier kreivės tai atspindėjo, HR 4.20 (95% CI 1.25-14.1, p<0.02 [102]. Krawczyk P. su bendraautoriais (2012 m.) aprašė *ERCC1* polimorfizmą. Platinos pagrindo chemoterapija yra pagrindinis pirmos eilės pažengusio neoperabilaus nesmulkiąstelio plaučių vėžio be EGFR mutacijų gydymas. *ERCC1* C/C bei C/T polimorfizmas, lyginant su T/T polimorfizmu, statistiškai patikimai (p 0,045) gerina bendrą išgyvenamumą (HR = 0.503, 95% CI: 0.129-1.137, p = 0.084) bei išgyvenamumą

iki ligos progresavimo (HR = 0.438, 95% CI: 0.084-0.881, p = 0.03). T/T polimorfizmas gali būti naudojamas kaip predikcinis žymuo blogam atsakui į gydymą bei išgyvenamumo sutrumpėjimui numatyti gydant platinos preparatais sergančiuosius pažengusių nesmulkiąstelių plaučių vėžiu [103]. Papadaki C. su bendraautoriais (2012 m.) atliko tyrimus *ERCC1* raiškos reikšmei nustatyti metastazavusių nesmulkiąstelių plaučių vėžiu sergantiems ligoniams, gydomiems antros eilės platinos pagrindo chemoterapija. Maža *ERCC1* raiška statistiškai reikšmingai asocijuojasi su geru atsaku į gydymą (p 0,011), išgyvenamumu iki ligos progresavimo (p 0,029), vidutiniu išgyvenamumu (p 0,001) po antros eilės gydymo pradžios. Taipogi, maža *ERCC1* ir *BRCA1* raiška statistiškai patikimai koreliuoja išgyvenamumo be ligos progresavimo padidėjimui (HR: 0.6; 95% PI [CI]: 0.4-0.8; p = 0.029 ir HR: 0.7; 95% PI [CI]: 0.6-0.9; p = 0.043, atitinkamai) bei bendro išgyvenamumo padidėjimui (HR: 0.5; 95% CI: 0.3-0.7; p = 0.003 ir HR: 0.7; 95% CI: 0.6-0.9; p = 0.038, atitinkamai). Tuo galima teigti, kad *ERCC1* raiška pirminiame tumore gali būti predikcinis jautrumui platinos preparatais žymuo antros eilės nesmulkiąstelių plaučių vėžio gydyme [104]. Zhang L. su bendraautoriais (2012 m.) tyrė ryšį tarp DNR nukleotidų polimorfizmo ir chemoterapijos toksiškumo. Nauji gydymo metodai kuriami remiantis teiginiais, kad genetiniai pakitimai gali daryti įtaką jautrumui chemoterapijai gydant pažengusį nesmulkiąstelių plaučių vėžį. Tiriamas nukleotidų iškirpimo atstatymas, įskaitant *RRM1*, kuris gali turėti įtakos chemoterapijos platinos preparatais toleravimą gydant pažengusių nesmulkiąstelių plaučių vėžiu sergančius ligonius. *RRM1* susijęs su  $\frac{3}{4}$  laipsnio leukopenija, gelta, kreatinino kiekio kraujyje padidėjimu (p 0,047) bei  $\frac{3}{4}$  laipsnio vėmimu (p 0,046) [105]. Zhang GB. su bendraautoriais (2012 m.) teigė, kad *RRM1* ir *ERCC1* genų raiška gali būti nustatoma tiek naviko audinyje, tiek ir periferinio kraujo limfocituose sergantiems nesmulkiąstelių plaučių vėžiu. Skiriant gydymą standartine Gemcitabino su Karboplatina chemoterapijos schema tyrimas atliktas taikant realaus laiko PGR metodą. *RRM1* raiška reikšmingai koreliavo tarp naviko audinio ir periferinio kraujo limfocitų (p 0,02), tačiau *ERCC1* raiškai patikimos koreliacijos tarp naviko audinio ir periferinio kraujo limfocitų nebuvo (p 0,073). *ERCC1* ir *RRM1* raiška naviko audinyje ir periferinio kraujo limfocituose buvo sinchroninė (atitinkamai p 0,001 ir



0,013). Nerasta reikšmingos koreliacijos tarp genų ekspresijos ir lyties, amžiaus, rūkymo, bendros būklės, ligos stadijos ir histologijos ( $p > 0,05$ ). Reikšmingas skirtumas nustatytas atsakui į chemoterapiją ( $p < 0,05$ ), vidutiniam išgyvenimo laikui ( $p < 0,05$ ), vienerių metų išgyvenamumui ( $p < 0,05$ ) ligoniams su maža *RRMI* ir *ERCCI* raiška naviko audinyje arba maža *RRMI* raiška periferiniame kraujyje lyginant su didele *RRMI* ir *ERCCI* raiška. Ligonų su maža *ERCCI* raiška naviko audinyje 2 metų išgyvenamumas buvo geresnis lyginant su didele *ERCCI* raiška ( $p < 0,05$ ). Nenustatyta koreliacija tarp didelės *ERCCI* raiškos periferiniame kraujyje atsakui į chemoterapiją ir prognozei ( $p > 0,05$ ). Teigiama, kad maža *RRMI* ir *ERCCI* raiška naviko audinyje bei maža *RRMI* raiška periferinio kraujo limfocituose koreliuoja su geresniu atsaku į chemoterapiją Gemcitabinu su Platinos preparatais bei išgyvenamumu sergantiesiems nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu [106]. Vilmar AC. Su bendraautoriais (2012 m.) nustatinėjo predikcinį *RRMI* vaidmenį gydant pažengusį nesmulkiąstelių plaučių vėžį. Nustatytas ligos kontrolės lygis ( $p = 0,046$ ), išgyvenamumas be ligos progresavimo ( $p = 0,000$ ), bendras išgyvenamumas ( $p = 0,002$ ) buvo iš esmės geresnis su *RRMI* negatyviais tumorais lyginant su *RRMI* teigiamais tumorais gydant ligonius cisplatina ir vinorelbinu. *RRMI* raiška neturėjo jokios įtakos gydant cisplatina, paklitaxeliu ir gemcitabinu [107]. Zhang GB su bendraautoriais (2012 m.) atliko tyrimą, kai pažengusių nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu sergantys ligoniai gydyti Gemcitabinu su Karboplatina, *RRMI* ir *ERCCI* raiška kraujyje ir naviko audinyje buvo matuojama realaus laiko PGR metodu. *RRMI* raiška periferiniame kraujyje ir naviko audinyje bei *ERCCI* raiškos teigiamai koreliavo atitinkamai ( $p = 0,02$  ir  $p = 0,073$ ). *RRMI* ir *ERCCI* raiška buvo sinchronizuota periferiniame kraujyje ( $p = 0,013$ ) ir naviko audinyje ( $p < 0,001$ ). Maža *RRMI* raiška periferiniame kraujyje su maža *RRMI* raiška naviko audinyje gerina atsaką į chemoterapiją ( $p = 0,012$ ), vidutinį išgyvenamumą ( $p = 0,043$ ), ilgesnį išgyvenamumą iki ligos progresavimo ( $p = 0,044$ ), maža *RRMI* raiška periferiniame kraujyje su maža *ERCCI* raiška navikiniame audinyje atitinkamai gerina atsaką į chemoterapiją ( $p = 0,012$ ), vidutinį išgyvenamumą ( $p = 0,014$ ), ilgesnį išgyvenamumą iki ligos progresavimo ( $p = 0,016$ ), maža *RRMI* ir *ERCCI* raiška navikiniame audinyje taip pat atitinkamai gerina atsaką į chemoterapiją ( $p = 0,003$ ), vidutinį išgyvenamumą ( $p = 0,007$ ), ilgesnį išgyvenamumą iki ligos progresavimo

( $p < 0,008$ ). Daugialypė Cox regresijos analizė parodė, kad *ERCCI* raiška naviko audinyje yra nepriklausomas rodiklis bendram išgyvenamumui. Išvada: maža *RRMI* raiška periferiniame kraujyje ir naviko audinyje sergantiems pažengusiu nesmulkiaūsteliūsteliu plaučių vėžiu gali pagerinti chemoterapijos Gemcitabinu su Karboplatina rezultatus. *ERCCI* raiška navikiniame audinyje yra predikcinis ir prognostinis žymuo gydant Gemcitabinu su Karboplatina nesmulkiaūsteliu plaučių vėžiu sergančius ligonius [108]. Li L. su bendraautoriais (2012 m.) gemcitabinu gydant nesmulkiaūsteliū plaučių vėžį tyrė vieno nukleotido polimorfizmą. Bendras išgyvenamumas skaičiuotas pagal Cox regresijos modelį. *RRMI* genui, gydant nesmulkiaūsteliū plaučių vėžį Gemcitabinu, (kartu su *CDA*, *NT5C2*, *SLC29A1*) nustatyta asociacija su bendru išgyvenamumu ( $p < 0,05$ ). Tyrimas parodė, kad *RRMI* raiškos mažėjimas gerina naviko atsaką Gemcitabinui [109]. Simon GR. Su bendraautoriais (2012 m.) atliko tyrimus, kai *ERCCI* ir *RRMI* raiškos įtaką nesmulkiaūsteliū vėžio gydymui skirtingais chemoterapiniais medikamentais vienoje grupėje buvo taikoma standartinė chemoterpija Carboplatina/Gemcitabinas/Docetaxelis/Gefitinibas/Atrasentanas. Kitoje grupėje taikytas individualizuotas gydymas: maža *RRMI* ir *ERCCI* raiška – Gemcitabinas/Karboplatina, maža *RRMI* ir didelė *ERCCI* raiška – Gemcitabinas/Docetaxelis, didelė *RRMI* ir maža *ERCCI* raiška – Docetaxelis/Karboplatina, didelė *RRMI* ir *ERCCI* raiška – Vinorelbinas/Docetaxelis. Bendras išgyvenamumas ir išgyvenamumas be ligos progresavimo apskaičiuotas Kaplan-Meier metodu. Nustatytas statistiškai reikšmingas patikimumas tarp grupių individualizuoto gydymo naudai ( $p < 0,002$ ), bendram išgyvenamumui ( $p < 0,016$ ), išgyvenamumui iki ligos progresavimo ( $p < 0,03$ ) [110]. Gong W. su bendraautoriais (2012 m.) atliko metaanalizę ir nustatė, kad prognostinė *RRMI* raiškos vertė pažengusio nesmulkiaūsteliū plaučių vėžio Gemcitabinu yra ginčytina atliekant meta-analizę iš vykusių 18 klinikinių tyrimų. Vertintas šansų santykis gydymo atsakui, svertinė išgyvenamumo mediana, laikas iki ligos progresavimo. Gydymo atsakas į Gemcitabiną statistiškai patikimai didesnis ligoniams su maža ar neigiama *RRMI* raiška lyginant su didele *RRMI* raiška (ŠS (OR) 0,31, 95% PI (CI) 0,21-0,45,  $p < 0,00001$ ). Mažos ar neigiamos *RRMI* raiškos pažengusiu nesmulkiaūsteliu plaučių vėžiu sergantys ligoniai

išgyveno 3,94 mėnesio ilgiau (95% PI (CI) 2015-5,73,  $p < 0,0001$ ) ir jiems nustatytas ilgesnis laikas iki ligos progresavimo (95% PI (CI) 0,39-4,89,  $p = 0,02$ ) negu ligoniams su didele *RRM1* raiška. Taigi, maža ar neigiama *RRM1* raiška asocijuojasi su geresniu gydymo atsaku į gydymą Gemcitabinu bei geresne prognoze sergantiesiems pažengusiu nesmulkialąsteliu plaučių vėžiu [111]. Ryu JS. Su bendraautoriais (2011 m.) atliko tyrimą: tirti *RRM1* geno žymėti vieno nukleotido polimorfizmai sergantiems vietiskai arba atokiai pažengusiu nesmulkialąsteliu plaučių vėžiu sergantys ligoniai ir gydyti Gemcitabinu su Cisplatina arba Taksanais su Cisplatina. Gydant Gemcitabinu su Cisplatina išgyvenamumas statistiškai patikimai trumpesnis, kai yra *RRM1* IVS1-2374 TT, IVS7+25 AA, IVS7-425 AA, ar IVS8+287 TT polimorfizmai (pritaikytas rizikos santykis (adjusted hazard ratio) atitinkamai 3,00, 2,89, 3,14, 3,00. Cox  $p$  Bonferroni atitinkamai 0,007, 0,012, 0,006, 0,007) [112]. Gao Z. su bendraautoriais (2011 m.) teigia, kad daugumoje tyrimų nustatyta, kad *RRM1* raiškos lygis įtakoja navikinių ląstelių atsparumą Gemcitabinui. Skirtumai tarp *RRM1* raiškos grupių analizuoti chi-square (chi kvadrato) testu. Išgyvenamumo skirtumai analizuoti Kaplan-Meier kreivėmis. *RRM1* raiška neturėjo akivaizdaus santykio tarp lyčių, amžiaus, rūkymo, ligos stadijos, histologinio tipo ( $p > 0,05$ ). Statistiškai patikimai ( $p = 0,005$ ) nustatyta geresnis atsakas į gydymą mažos *RRM1* raiškos grupėje lyginant su didelės *RRM1* raiškos grupe, 1 metų išgyvenamumas statistiškai patikimai ( $p = 0,009$ ) geresnis mažos *RRM1* raiškos grupėje. Vidutiniam išgyvenamumui statistinio patikimumo tarp grupių negauta ( $p > 0,245$ ). Statistiškai patikimai ( $p = 0,042$ ) ilgesnis laikas iki ligos progresavimo nustatytas mažos *RRM1* raiškos grupėje lyginant su didelės *RRM1* raiškos grupe [113]. Wang LR su bendraautoriais (2011 m.) teigė, kad nesmulkialąsteliu pažengusiu plaučių vėžiu sergantys ligoniai kaip taisyklė gydomi chemoterapija Gemcitabinu su Karboplatina. *RRM1* raiška nustatyta kiekybiniu atvirkštinės transkriptazės PGR metodu. Kaplan-Meier išgyvenamumo kreivės ir log-rank testas naudoti koreliacijai tarp genų ekspresijos ir bendro išgyvenamumo išaiškinimui. Buvo nustatyta stipri koreliacija tarp *RRM1* geno raiškos ir atsako į chemoterapiją ( $p = 0,003$ ). Ligoniai su maža *RRM1* raiška periferiniame kraujyje gyveno ilgiau negu su didele *RRM1* raiška (log-rank 3,989,  $p = 0,046$ ) [114]. Han JY. Su bendraautoriais (2011 m.) tyrinėjo bendrą DNR taisymo genų *RRM1* ir *ERCC1*

polimorfizmą plaučių adenokarcinoma sergantiems niekada nerūkiusiems ligoniams, pirmos eilės gydymui skiriant Gefitinibą arba Gemcitabiną su Cisplatina. *ERCCI* 8092AA polimorfizmą turintys ligoniai turėjo geresnį atsaką Gemcitabino ir Cisplatinos chemoterapijai lyginant su CC polimorfizmu (p 0,043). Lyginant Gefitinibą su Gemcitabino ir Cisplatinos chemoterapija statistiškai reikšmingai ilgesnis laikas iki ligos progresavimo stebėtas ligoniams su *RRMI* 2464GG genotipu (p 0,004), *ERCCI* 8092CA genotipu (p 0,024) [115]. Bepler G. Su bendraautorais (2011 m.) nustatė, kad tiriant *ERCCI* ir *RRMI* kaip prognostinius ir predikcinius žymenis, gydant sergančiuosius nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu, didelė *ERCCI* ir *RRMI* raiška dažniau pasireiškė moterims ir adenokarcinoma sergantiems pagyvenusiems ligoniams. Maža *ERCCI* raiška nurodo statistiškai geresnį atsaką į chemoterapiją lyginant su kontroline grupe (hazard ratio (HR) 0,73, p 0,02). Didelė *ERCCI* reikšmė lyginant su maža neturėjo statistinio patikimumo išgyvenamumui (HR 0,77, p 0,10) [116]. Leng XF. Su bendraautorais (2012 m.) nustatinėjo *ERCCI* ir *RRMI* genus, kaip prognostinius žymenis sergantiesiems nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu ir gydytiems platinos pagrindo adjuvantine chemoterapija, analizuojant santykį su chemoterapija, išgyvenamumu iki ligos progresavimo, bendru išgyvenamumu. Ligoniams su maža *ERCCI* raiška buvo statistiškai ilgesnis išgyvenamumas iki ligos progresavimo (p 0,001) ir bendras išgyvenamumas (p 0,001) bei naudingesnis gydymas platinos preparatais (p 0,001), negu su didele raiška. *ERCCI* nustatomas kaip svarbus veiksnys išgyvenamumui po chirurginio nesmulkiąstelio plaučių vėžio gydymo, jo raiška gali būti naudojama kaip prognostinis veiksnys gydant nesmulkiąstelį plaučių vėžį platinos chemoterapijos pagrindu [117]. Zhiqiang G. Su bendraautorais (2011 m.) pateikė duomenis apie *ERCCI* baltymo asociaciją su rezistencija cisplatinai. Pažengusio nesmulkiąstelio plaučių vėžio standartinio gydymo grupei skirta Gemcitabinu su Cisplatina arba Vinorelbinu su Cisplatina. Ligoniai su maža *ERCCI* raiška gavo chemoterapiją Gemcitabinas su Cisplatina arba Vinorelbinas su Cisplatina, ligoniai su didele *ERCCI* raiška gydyti Gemcitabinu su Vinorelbinu. Išgyvenamumo mediana buvo 10,1 mėnesio (95% PI (CI) 8,48-11,92) standartinėje grupėje ir 13,59 mėnesio individualizuotoje grupėje (95% PI (CI) 11,86-14,74). Skirtumas tarp išgyvenamumo medianos statistiškai reikšmingai skyrėsi tarp grupių (p 0,036). *ERCCI*

baltymo raiška pažengusių plaučių vėžiu sergantiems ligoniams statistiškai reikšmingai nesiskyrė vertinant atsaką į gydymą, bendrą išgyvenamumą ir išgyvenamumą iki ligos progresavimo individualizuoto gydymo grupėje [5]. Esant neaiškiam adjuvantinės chemoterapijos vaidmeniui gydant radikaliai operuotus ligonius, sergančius nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu, buvo atlikti keli tarptautiniai klinikiniai tyrimai, įrodę adjuvantinės chemoterapijos naudą. Tarptautinis klinikinis tyrimas IALT (The International Adjuvant Lung Cancer Trial) (2004 m.) buvo pirmasis pademonstravęs statistiškai patikimai reikšmingą adjuvantinės chemoterapijos naudą. Radikaliai operuotiems ligoniams, sergantiems I – III stadijų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu, buvo taikomas pooperacinis gydymas cisplatina su antru preparatu (vindesinu, vinblastinu, vinorelbinu, etopozidu) lyginant su sekimu. Stebėtas statistiškai patikimai reikšmingas ilgesnis išgyvenamumas chemoterapijos grupėje: 5 metų išgyvenamumas chemoterapijos grupėje siekė 44,5% lyginant su stebėjimo grupe 40,4% (hazard ratio 0,86; 95% CI, 0.76-0.98;  $p < 0.03$ ) [118]. Klinikinis tyrimas ANITA (Adjuvant Navelbine International Trial Association) tyrė adjuvantinę terapiją lyginant su sekimu po radikaliai atliktų IB-III A stadijų sergantiesiems nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu. Nustatyta, kad pooperacinė chemoterapija reikšmingai sumažino mirties riziką (hazard ratio, 0,80; 95% CI, 0.66-0.96;  $p = 0.017$ ) ir suteikė 5 metų išgyvenamumo pranašumą 8,6% prieš stebėjimo grupę (vidutinis išgyvenamumas 65,7 mėnesiai adjuvantinės chemoterapijos grupėje lyginant su 43,7 mėnesiais stebėjimo grupėje) [119]. Klinikinis tyrimas NCIC-JBR.10 (National Cancer Institute of Canada) parodė, kad taikant adjuvantinę chemoterapiją IB-II stadijų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu sergantiesiems chemoterapijos grupėje bendras išgyvenamumas buvo statistiškai reikšmingai ilgesnis (94 mėnesiai lyginant su 73 mėnesiais sekimo grupėje; HR, 0,69; 95% CI, 0,52-0,91;  $p = 0,04$ ), kaip ir laikas iki ligos progresavimo (HR, 0,60;  $p < 0,001$ ). 5 metų išgyvenamumas geresnis buvo adjuvantinės chemoterapijos grupėje lyginant su sekimo grupe (69% su 54% atitinkamai,  $p = 0,03$ ). Vidutinis ligonių sekimas vyko 9,3 metų, adjuvantinė chemoterapija reikšmingai pagerino išgyvenamumą ( $p = 0,04$ ) [120]. Klinikinis tyrimas CALGB 9633 (The Cancer and Leukemia Group B) tyrė sergančiuosius IB stadijos nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu po atliktos radiklios rezekcijos taikant adjuvantinę chemoterapiją lyginant su sekimu.

Stebėtas 13% geresnis 5 metų bendras išgyvenamumas bei 12% geresnis 4 metų bendras išgyvenamumas taikant adjuvantinę chemoterapiją (HR, 0,62, p 0,028) [121]. Tarptautinis klinikinis tyrimas ALPI (Adjuvant Lung Project Italy) nenustatė adjuvantinės chemoterapijos reikšmės gydant I-IIIa stadijos nesmulkiąstelių plaučių vėžį: vidutinis bendras išgyvenamumas 55 mėnesiai chemoterapijos grupėje lyginant su 48 mėnesiais stebėjimo grupėje (HR 0,96; 95% CI 0,81-1,13; p 0,59) [122]. Lin ZZ. su bendraautorais (2012 m.) atlikę multivariacinę analizę nustatė, kad platinos preparatų pagrindo adjuvantinė chemoterapija yra nepriklausomas prognostinis veiksnys II stadijos nesmulkiąstelių plaučių vėžiu sergantiesiems vyrams, moterims bei pagyvenusiems ligoniams (virš 70 metų) [123]. Wang L. su bendraautorais (2011 m.) tyrė *RRMI* geno raišką kaip predikcinį žymenį periferiniame kraujyje sergantiesiems nesmulkiąstelių plaučių vėžiu ir gydytiems Gemcitabinu su Platina kiekybinės atvirkštinės transkripcijos polimerazės grandinine reakcija, taikytos Kaplan-Meier gyvenimo kreivės ir log-rank testas koreliacijai tarp geno raiškos ir bendro išgyvenamumo apskaičiavimui. Nustatyta statistiškai patikima koreliacija tarp *RRMI* raiškos ir atsako į chemoterapiją (p 0,003): mažos *RRMI* raiškos ligoniai periferiniame kraujyje gyveno ilgiau lyginant su didelės *RRMI* raiškos ligoniais (16,95 lyginant 12,76 mėnesio, log-rank 3,989, p 0,046). Pažengusių nesmulkiąstelių plaučių vėžiu sergantieji su maža *RRMI* raiška sėkmingiau gydomi Gemcitabino su Platina chemoterapija. *RRMI* raiška periferiniame kraujyje gali būti naudojamas kaip predikcinis žymuo prognozuojant nesmulkiąstelių plaučių vėžio gydymą Gemcitabinu su Platina [14]. Bepler su bendraautorais (2013 m.) III-ios eilės klinikiniam tyrimo neįrodė, kad didelė *ERCCI* raiška, siejama su atsparumu chemoterapijai platinos pagrindo preparatais, yra predikcinis molekulinis žymuo [124]. Įvertinus įvairių autorių duomenis šiuo metu vykdomas III-ios eilės ITACA (angl. International Tailored Chemotherapy Adjuvant Trial) klinikinis tyrimas, pagal *ERCCI* raišką lyginantis standartinės adjuvantinės chemoterapijos ir individualizuotos chemoterapijos veiksmingumą gydant radikaliai operuotus nesmulkiąstelių plaučių vėžiu sergančius ligonius [125].

## 2.4. Literatūros apžvalgos apibendrinimas

Per vieną dieną ląstelės patiria tūkstančius endogeninių ir egzogeninių veiksnių sukeltamų DNR pažeidimų (Cho J. su bendraautorais (2012 m.) tyrė kamienines ląsteles pelių organizme ir nustatė, kad mažėjanti *ERCC1* raiška tiesiogiai koreliuoja su progresuojančiu funkcionuojančių kraujodaros ir kamieninių ląstelių mažėjimu, skatinama ląstelių mirtis [55]). *ERCC1* ir *RRM1* genai bei jų koduojami baltymai dalyvauja DNR pažeidimų atpažinime ir DNR grandinės atstatyme vienoje grandinėje ar tarp grandinių nepriklausomai nuo pirminės naviko lokalizacijos (Barakat K. su bendraautorais (2012 m.) tyrė DNR pažeidimus, atsirandančius dėl šiuolaikiniam priešvėžiniam gydymui naudojamos jonizuojančios radiacijos bei chemopreparatų, kurie taip sutrikdo genomą. Šie veiksniai neleidžia vėžinėms ląstelėms daugintis ir proliferuoti. DNR taisymo mechanizmai veikia per bazių ar nukleotidų iškirpimą iš pažeistos grandinės [58]). DNR tarpgijinių ryšių suardymas yra labai didelis grandinės pažeidimas, galintis sukelti negrįžtamus pokyčius DNR grandinėje su neįmanomu taisymu (tai Vare D. ir bendraautorai (2012 m.) tyrinėjo *ERCC1* genų įtaką DNR pažeidimams su bakterijomis bei ląstelių kultūromis [54]). *ERCC1* genas dalyvauja iškerpant pažeistą nukleotidą iš DNR grandinės, o *RRM1* genas dalyvauja atstatant pirminę DNR grandinę. DNR taisymo procesas nėra visiškai iki galo aiškus, atliekant tyrimus matomi prieštaringi duomenys. DNR taisymas sveikose žinduolių ląstelėse yra itin lėtas procesas, o navikinėse ląstelėse vyksta greičiau. Tiriamųjų *ERCC1* ir *RRM1* genų išgryninimui iš RNR naudojama realaus laiko atvirkštinės transkriptazės polimerazės grandininė reakcija (Andrews TD. ir kiti (2011 m.) tyrė plaučių vėžio individualuoto gydymo svarbą atliekant naviko molekulinę analizę [56]). Eksperimentiniai *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos tyrimai gali būti atliekami su bakterijomis, ląstelių kultūromis, kamieninėmis ląstelėmis, ląstelių kultūromis su medikamentais in vitro, eksperimentiniais gyvūnėliais. Klinikiniai *ERCC1* ir *RRM1* genų tyrimai atliekami tiriant sergančiuosius osteosarkoma (Hao T. su bendraautorais (2012 m.) tyrė osteosarkoma sergančiuosius, nebuvo rasta statistiškai reikšmingos koreliacijos *ERCC1* geno polimorfizmo su osteosarkomos prognoze. *ERCC1* geno T/T variantas gali būti taikomas kaip žymuo osteosarkomų gydyme platinos preparatais [65]), krūties vėžiu (Fu JM. ir kiti (2012 m.) tyrė *ERCC1* geną

sergančiosioms krūties vėžiu; nustatyta, kad emodino įtraukimas į ląsteles leido rezistentiškumą vaistams sumažinti iki 10 kartų, ERCC1 baltymo raiška palaiptams mažėjo [66]), piktybine mezotelioma (Kao SC. ir bendraautorai (2012 m.) aprašė *ERCC1* geno raiškos įtaką ilgesniam išgyvenamumui sergantiesiems piktybine (epitelioidine ir bifaze) pleuros mezotelioma bei gydytiems atliekant ekstrapleurinę pulmonektomiją; didelę *ERCC1* geno raišką turintys ligoniai turi tendenciją ilgesniam bendram išgyvenamumui lyginant su maža *ERCC1* raiška [68]), skrandžio vėžiu (Wang Z. (2012 m.) aprašė *ERCC1* geno polimorfizmo įtaką skrandžio vėžiu sergančiųjų ir gydytų chemoterapija pagal schemą Platinos preparatas su 5-FU rezultatams, nebuvo nustatytas statistiškai patikimas ryšys tarp *ERCC1* geno polimorfizmo ir atsako į gydymą, nors šis genas glaudžiai susijęs su klinikiniais rezultatais [71]), galvos ir kaklo navikais (Huang PY. ir bendraautorai (2012 m.) nustatė *ERCC1* raiškos santykį su gydymo atsaku gydant platinos pagrindo indukcinę chemoterapija nazofaringinę karcinomą; gydymo atsakas indukciniai chemoterapijai bei 5 metų išgyvenamumas be ligos progresavimo statistiškai patikimai geresnis mažos *ERCC1* raiškos lyginant su didelės *ERCC1* raiškos ligoniais. *ERCC1* raiška yra reikšmingas prognostinis rodiklis bendram išgyvenamumui [74]), šlapimo pūslės vėžiu (Li S. ir bendraautorai (2014 m.) atliko *ERCC1* raiškos metaanalizę sergantiems pažengusiu šlapimo pūslės vėžiu ir gydytiems platinos pagrindo chemoterapija; vidutinis bendras išgyvenamumas statistiškai reikšmingais ilgesnis buvo mažą *ERCC1* raišką turintiems lyginant su didelę *ERCC1* raišką turintiems [78]), kasos ir latakų vėžiu (Valsecchi ME. su bendraautorais (2012 m.) nagrinėjo *RRM1* ir *ERCC1* raišką kasos navike, nerasta reikšmingo ryšio tarp didelės ir mažos raiškos *RRM1* ir *ERCC1* bei bendro išgyvenamumo [82]), smulkialąsteliu plaučių vėžiu (Serenio M. su bendraautorais (2012 m.) nustatinėjo smulkialąsteliu plaučių vėžio ryšį su *ERCC1* geno raiška, nustatyta reikšminga asocijacija tarp didelės *ERCC1* raiškos ir prasto atsako į gydymą platinos preparatais, mažą *ERCC1* raišką reikšmingai asocijuojasi su geresniu išgyvenamumu iki ligos progresavimo ir gali būti naudojama kaip predikcinis bei prognostinis žymuo atsakui į gydymą platinos preparatais sergantiems smulkialąsteliu plaučių vėžiu [94]), nesmulkialąsteliu plaučių vėžiu (Suwinski R. ir kiti (2012 m.) tiriant *ERCC1* geną nustatė statistiškai reikšmingą klinikinės stadijos ir *ERCC1* raiškos



įtaką bendram išgyvenamumui sergantiems nesmulkiaūstelium plaučių vėziu [6]. Ludovini V. su bendraautoriais (2011 m.) nustatė, kad genetiniai pokyčiai vaistų metabolizme gali turėti įtakos klinikiniam atsakui, toksiškumui ir prognozei Platinos ir Gemcitabino terapija gydant sergančius nesmulkiaūstelium plaučių vėziu, neįrodytas statistinis patikimumas gydymo atsakui, nehematologiniam toksiškumui, ilgesniam išgyvenamumui be ligos progresavimo [88]. Wei HB. su bendraautoriais (2012 m.) atliko 11-os tarptautinių tyrimų metanalizę ir išryškino *ERCC1* polimorfizmą bei bendrą atsako dažnį, jautrumas Platinos pagrindo chemoterapijai reikšmingai susijęs su *ERCC1* C118T polimorfizmu [96]. Das M. su bendraautoriais (2012 m.) nustatė, kad *ERCC1* raiška gali būti nustatoma kraujyje cirkuliuojančiose naviko lūstelėse ir naudojama kaip predikcinis žymuo gydant platinos preparatais metastazavusį nesmulkiaūstelį plaučių vėzį, augant *ERCC1* raiškai statistiškai patikimai mažėjo ligonių išgyvenamumas iki ligos progresavimo, *ERCC1* sumažėjimas asocijavosi su ilgesniu išgyvenamumu iki ligos progresavimo [102]. Vilmar AC. Su bendraautoriais (2012 m.) nustatinėjo predikcinį *RRM1* vaidmenį gydant pažengusį nesmulkiaūstelį plaučių vėzį, išgyvenamumas be ligos progresavimo, bendras išgyvenamumas buvo iš esmės geresnis su *RRM1* negatyviais tumorais lyginant su *RRM1* teigiamais tumorais gydant ligonius cisplatina ir vinorelbinu [107]. Gao Z. su bendraautoriais (2011 m.) teigia, kad *RRM1* raiškos lygis įtakoja navikinių lūstelių atsparumą Gemcitabinui, statistiškai patikimai nustatytas geresnis atsakas į gydymą, 1 metų išgyvenamumas, laikas iki ligos progresavimo mažos *RRM1* raiškos grupėje lyginant su didelės *RRM1* raiškos grupe [113]). Tarptautinis klinikinis tyrimas ALPI nenustatė adjuvantinės chemoterapijos reikšmės gydant I-III A stadijos nesmulkiaūstelį plaučių vėzį, o tarptautiniai klinikiniai tyrimai IALT, ANITA, NCIC-JBR.10, CALGB 9633 įrodė adjuvantinės chemoterapijos reikšmę radikaliai operuotam nesmulkiaūsteliam plaučių vėziui) [118-122] rezultatai yra prieštaringi ir leidžia rinktis individualizuotą pooperacinę chemoterapinę gydymą. Įvertinus autorių duomenis galima teigti, kad didelė *ERCC1* geno raiška susijusi su blogu atsaku į gydymą chemoterapija Platinos preparatais, o didelė *RRM1* geno raiška susijusi su blogu atsaku į gydymą chemoterapija Gemcitabinu. Tiriant šių genų raišką ilgesniam bendram išgyvenamumui bei išgyvenamumui iki ligos progresavimo duomenys yra

prieštaringi. Neaišku kaip iš prognostinės bei predikcinės pusės *ERCCI* bei *RRMI* genų raiška skiriasi tarp nesmulkiaštelio plaučių vėžio stadijų. Todėl tikslinga atlikti papildomus tyrimus DNR pažaidų taisymo sistemos genų raiškai nustatyti ir individualų gydymą suplanuoti siekiant įmanomo geriausio gydymo rezultato.

### 3. Tyrimo metodika

#### 3.1. Perspektyvinio stebėsenos tyrimo apibūdinimas

Tyrimas atliktas Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Vidaus ligų, šeimos medicinos ir onkologijos klinikoje. Į tyrimą įtraukta 80 pacientų, kurie kreipėsi į Nacionalinį Vėžio Institutą (NVI), gydyti krūtinės chirurgijos ir onkologijos skyriuje bei po to stebėti Nacionalinio Vėžio Instituto konsultacinėje poliklinikoje.

Tyrimo protokolą įvertino ir patvirtino Vilniaus regioninis biomedicininis tyrimų etikos komitetas 2012-05-08 d., Nr.158200-05-455-141 (I priedas) su papildymu 2012-07-03 Nr. 158200-455-PP1-22 (II priedas).

Tai perspektyvinis, žvalgomasis tyrimas, kurio metu buvo įtraukiami pacientai, 2012 – 2015 metais pirmą kartą susirgę IB – IIIA stadijų nesmulkiašteliniu plaučių vėžiu ir gydymui atvykę į NVI (tyrimo pradžioje gydymo įstaigos pavadinimas buvo VUOI (Vilniaus universiteto Onkologijos institutas)). Imties dydis skaičiuotas pagal metodiką, naudojamą paskaičiuoti imties dydžiui skerspjūvio tyrimuose dviejų pogrupių palyginimui. Pasirinktas reikšmingumo lygmuo 0,05 ir tyrimo statistinis pajėgumas 0,8, nustatytas tiriamųjų skaičius - 80. Ligonii atvykus ambulatoriškai arba stacionare taikytas pilnas ištyrimas (atliekami kraujo tyrimai, šlapimo tyrimai, EKG (elektrokardiograma), kvėpavimo funkcinių rodiklių įvertinimas, endobronchinis ištyrimas, radiologinis ištyrimas (krūtinės rentgenologinis tyrimas ir/arba kompiuterinės tomografijos tyrimas), ultragarsinis tyrimas). Į tyrimą buvo įtraukiami tik tie ligoniai, kuriems atlikus tyrimus pagal 2009 metais IASLC (International Association for the Study of Lung Cancer) patvirtintą 7-ąją plaučių vėžio TNM (angl. tumor, node, metastazes) klasifikaciją gydymą buvo galima pradėti nuo operacijos, ligoniai pasirašydavo rašytinį sutikimą dalyvauti tyrime (III priedas, IV priedas) „DNR reparacijos sistemos genų raiškos svarba numatant pacientų, sergančių IB – IIIA stadijų nesmulkiašteliniu plaučių vėžiu, pooperacinį gydymą“. Operacijos apimtis buvo nustatoma individualiai kiekvienam ligoniui pagal navikinio proceso vietą bei išplitimą. Atliekamos plaučio rezekcijos buvo

anatominė segmentektomija, lobektomija, arba pulmonektomija. Visiems ligoniams atlikta išplėstinė limfadenektomija. Operacijos metu pašalinus naviką gydytojas patologas preparate mikroskopiškai nustatydamo naviką ir iš jo paimdamo fragmentą, kraujas iš venos bei skrepliai iš bronchų buvo imami operacinėje. Visa ši medžiaga skirta *ERCC1* bei *RRM1* genų raiškai ir jų polimorfizmui šiuose mėginiuose nustatyti. Visiems ligoniams po radikalaus operacinio gydymo buvo taikoma adjuvantinė pooperacinė chemoterapija pagal schemą platinos preparatas ir etopozidas. Visi tyrime dalyvavę ligoniai gavo 4 adjuvantinės chemoterapijos kursus. Po 4 adjuvantinės chemoterapijos kursų (4 mėnesiai po chirurginio gydymo) kiekvienam ligoniui pakartotinai imtas kraujo tyrimas iš venos *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškai nustatyti. Nesant progresavimo ligoniui taikytas stebėjimas, 1 metai po operacinio gydymo pakartotinai imtas kraujo tyrimas iš venos *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškai nustatyti. Stebėjimo metu nustatčius ligos progresavimą skirta antros eilės chemoterapija arba/ir radioterapija, imtas kraujo tyrimas iš venos *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškai nustatyti.

Tyrimo metu rinkta ir įvertinta paciento ligos ir gyvenimo anamnezė (amžius, rūkymo stažas), naviko histologinis tipas, naviko diferenciacijos laipsnis, išgyvenamumas iki ligos progresavimo, *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška pradedant priešnavikinį gydymą, baigus adjuvantinį gydymą (4 mėnesiai po operacijos) bei 1 metai po operacinio gydymo arba nustatčius ligos progresavimą. *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos ir polimorfizmų pokyčiai lyginti su ligos eiga ir atsaku į gydymą.

### 3.2. Tyrimo ir gydymo schema

Pacientai, sergantys IB-IIIa stadijų nesmulkiašteliniu plaučių vėžiu, kuriems atliekamos radikalios plaučių rezekcinės operacijos ir kurie sutiko dalyvauti tyrime



*ERCC1, RRM1* genų raiškos tyrimas iš naviko, veninio kraujo ir bronchų sekreto



Adjuvantinė pooperacinė chemoterapija (4 PE chemoterapijos kursai) 3 – 4 savaitės po plaučių rezekcinės operacijos

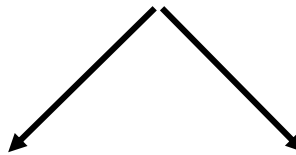


*ERCC1, RRM1* genų raiškos tyrimas iš veninio kraujo praėjus 4 mėnesiams po operacijos (baigus adjuvantinę pooperacinę chemoterapiją)



*ERCC1, RRM1* genų raiškos tyrimas iš veninio kraujo

(1 metai po operacijos arba atsiradus ligos atkryčiui ar progresavimui)



Mažos *ERCC1, RRM1* genų raiškos grupė

Didelės *ERCC1, RRM1* genų raiškos grupė

*Paveikslas Nr. 1. Tyrimo ir gydymo schema.*

Lentelė Nr. 1. Tyrimo ir gydymo schema.

| Tyrimo ėminys                           | Tyrimas   | Mėginių paėmimo schema   |
|---|---|--|
| Bronchų sekretas                        | Genų raiškos ir polimorfizmų nustatymas   | Operacijos dieną   |
| Naviko biopsinė arba operacinė medžiaga | <ul style="list-style-type: none"> <li>Histologinis tyrimas</li> <li>Genų raiškos ir polimorfizmo nustatymas</li> </ul> | Operacijos dieną   |
| Kraujas                                 | Genų raiškos ir polimorfizmo nustatymas   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Operacijos dieną;</li> <li>4 mėnesiai po operacijos (baigus adjuvantinę chemoterapiją);</li> <li>1 metai po operacijos arba atsiradus ligos atkryčiui ar progresavimui</li> </ul> |

Ligonių tyrimo ir gydymo schemas dizainas pavaizduotas 1 paveiksle ir 1 lentelėje.

### 3.3. Ligonių atranka tyrimui

#### 3.3.1. Ligonių įtraukimo į tyrimą kriterijai

- Pasirašyta informuoto paciento sutikimo dalyvauti tyrime forma.
- Histologiškai patvirtintas IB – IIIA stadijų nesmulkiaūstelis plaučių vėžys.
- Pacientai, kuriems plaučių nesmulkiaūstelio vėžio gydymas pradamas nuo radikalios rezekcinės operacijos.
- Pacientai, kuriems galimas pooperacinis adjuvantinis gydymas Platinos pagrindo chemoterapija
- Pacientai, kurių būklė pagal ECOG (angl. *The Eastern Cooperative Oncology Group*) – 0, 1, 2 balai.

#### 3.3.2. Ligonių neįtraukimo į tyrimą kriterijai

- Pacientų atsisakymas dalyvauti tyrime.
- Jaunesni nei 18 metų asmenys.
- Pacientai, kurių būklė pagal ECOG (angl. *The Eastern Cooperative Oncology Group*) – 3, 4 balai.
- Pacientai, kuriems negalimas pooperacinis adjuvantinis gydymas Platinos pagrindo chemoterapija.
- Pacientai, sergantys smulkiaūsteliu plaučių vėžiu.

- Pacientai, sergantys vietiškai ar atokiai išplitusiu nesmulkiaželiu plaučių vėžiu.
- Pacientai, kuriems nustatytos metastazės plaučiuose.
- Buvęs ar esamas kitos lokalizacijos piktybinis navikas.
- Psichinės, genetinės, somatinės dekompenсуotos ligos.

### **3.3.3. Ligonų pašalinimas iš tyrimo**

Ligoniai iš tyrimo pašalinami, jeigu:

- Nebuvo duomenų apie ligonio tolesnę stebėjimą.
- Ligonis atsisakė toliau dalyvauti tyrime.

### 3.4. Plaučių vėžio stadijos įvertinimas

Plaučių vėžio stadija nustatyta pagal 2009 metais IASLC (International Association for the Study of Lung Cancer) patvirtintą 7-ąją plaučių vėžio TNM klasifikaciją [125] (2 lentelė).

Lentelė Nr. 2. Plaučių vėžio TNM klasifikacija.

| TNM sudėtis:<br>T – pirminis navikas<br>N – sritiniai limfiniai mazgai<br>M – atokios metastazės | Apibūdinimas   |
|--|--|
| Tx   | Pirminis navikas nevertinamas, nustatytos naviko ląstelės skrepliuose arba bronchų nuoplovose be bronchoskopinio naviko matymo   |
| T0   | Pirminis navikas nenustatytas  |
| Tis  | Vietišškai plintantis navikas  |
| T1   | Navikas 3 cm ar mažesnis didžiausiame matmenyje, apsuptas plaučio ar visceralinės pleuros, bronchoskopiškai nenustačius įaugimo proksimaliau skiltinio broncho (t.y. ne į pagrindinį bronchą)  |
| T1a  | Navikas 2 cm ar mažesnis didžiausiame matmenyje  |
| T1b  | Navikas didesnis už 2 cm, bet ne didesnis kaip 3 cm didžiausiame matmenyje   |
| T2   | Navikas didesnis negu 3 cm, tačiau ne didesnis kaip 7 cm; peraugęs pagrindinį bronchą (2 cm ar daugiau nuo trachėjos keteros); įtraukta visceralinė krūtinplėvė; susijęs su atelektaze ar obstrukciniu pneumonitu, kuris tęsiasi į plaučio šaknį ir neįtraukia viso plaučio  |
| T2a  | Navikas didesnis už 3 cm, bet ne didesnis kaip 5 cm didžiausiame matmenyje   |
| T2b  | Navikas didesnis už 5 cm, bet ne didesnis kaip 7 cm didžiausiame matmenyje   |
| T3   | Navikas didesnis kaip 7 cm ar tiesiogiai peraugęs krūtinės sieną, diafragmą, diafragminį nervą, tarpuplaučio krūtinplėvę, parietalinę širdiplėvę; navikas pagrindiniame bronche mažiau kaip 2 cm iki trachėjos keteros (neperaugant pačios trachėjos keteros); susijęs su viso plaučio atelektaze ar obstrukciniu pneumonitu; atskiri kaip navikiniai mazgai toje pačioje plaučio skiltyje |
| T4   | Nesvarbu kokio dydžio navikas su peraugimu į tarpuplautį, širdį, didžiąsias kraujagysles, trachėją, grįžtamąjį gerklų nervą, stemplę, stuburo slankstelius, trachėjos keterą; nustatyti navikiniai mazgai skirtingose tos pačios pusės plaučio skiltyse  |
| Nx   | Sritiniai limfiniai mazgai nevertinami   |
| N0   | Nėra metastazių sritiniuose limfiniuose mazguose   |
| N1   | Nustatytos metastazės tos pačios pusės peribronchiniuose arba/ir tos pačios pusės plaučio šaknies limfiniuose mazguose, intrapulmoniniuose limfiniuose mazguose įskaitant tiesioginį išplitimą   |
| N2   | Metastazės tos pačios pusės tarpuplaučio ir/arba subkarininiuose limfiniuose mazguose  |
| N3   | Metastazės kitos pusės tarpuplaučio ar plaučio šaknies, tos pačios pusės ar kitos pusės viršraktikauliniuose limfiniuose mazguose  |
| M0   | Nėra atokių metastazių   |
| M1   | Nustatytos atokios metastazės  |
| M1a  | Atskiri navikiniai mazgai kitos pusės plautyje, navikiniai mazgai pleuroje arba piktybinis pleuritas, piktybinis perikarditas  |
| M1b  | Atokios metastazės   |

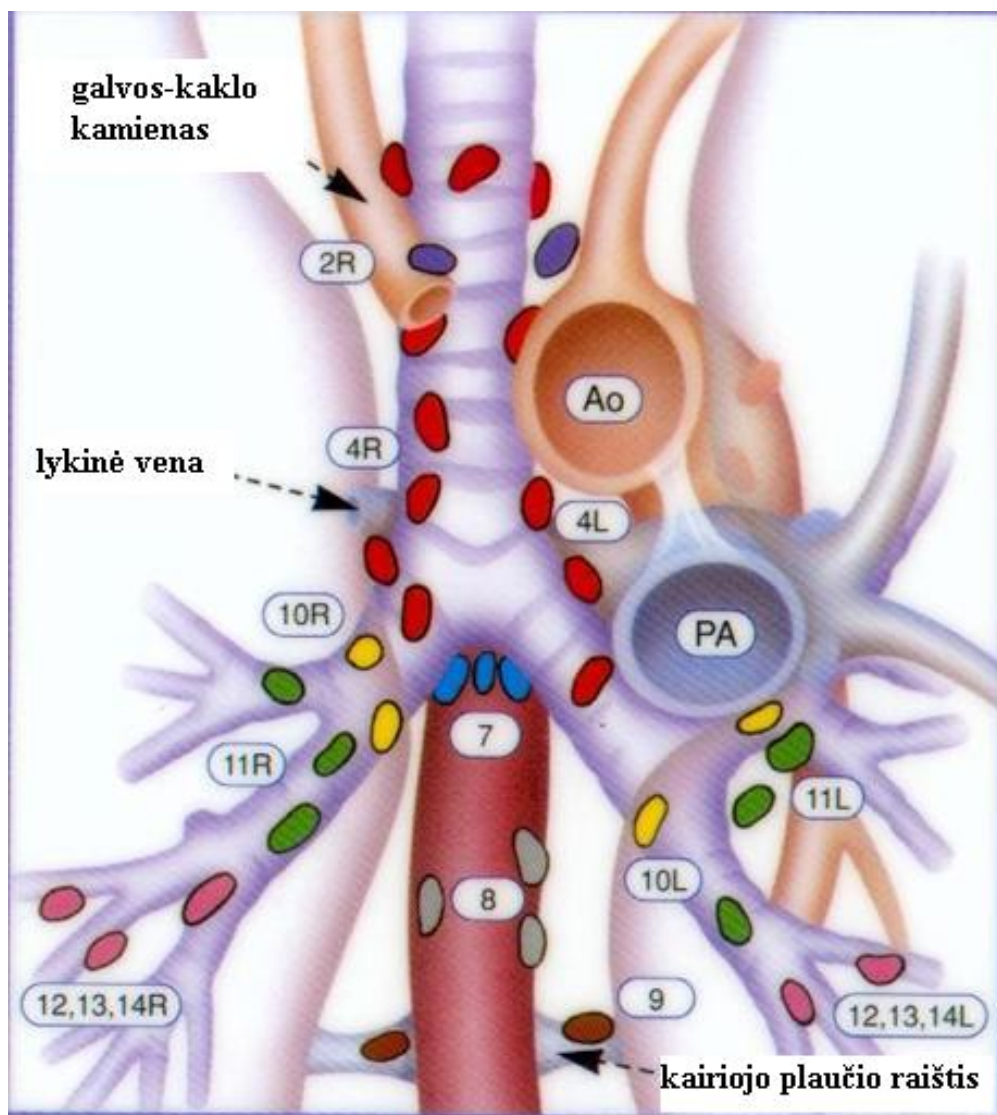


Sritinių limfinių mazgų klasifikacija, naudojama TNM klasifikacijoje sergantiesiems plaučių vėžiu [125], pavaizduota 3 lentelėje.

*Lentelė Nr. 3. Sritinių limfinių mazgų klasifikacija.*

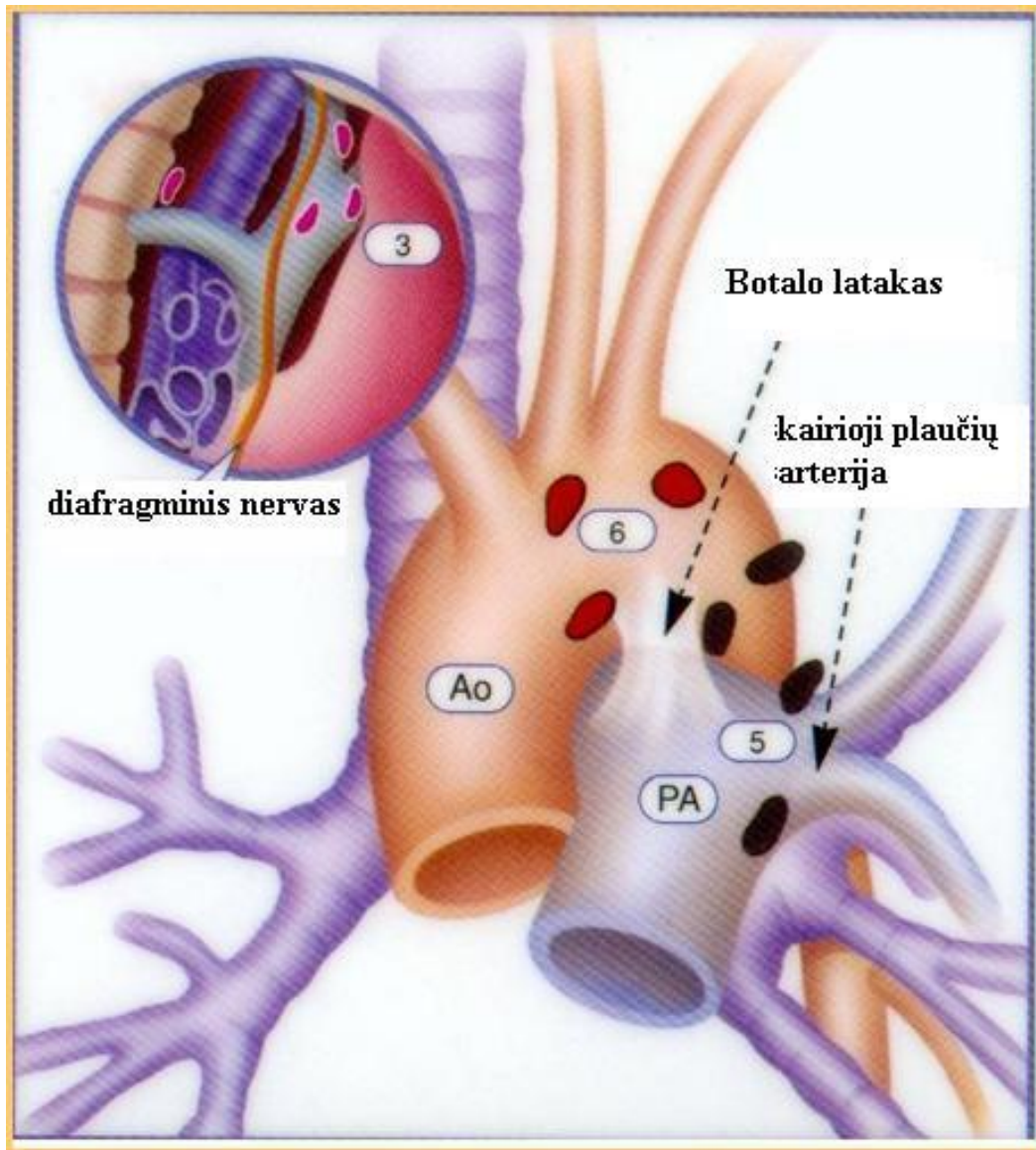
| <b>Limfinio mazgo numeris</b> | <b>Limfinio mazgo anatomicinė vieta</b>                            |
|-------------------------------|--|
| 1                             | Žemieji kaklo, viršraktikauliniai ir jungo duobės limfiniai mazgai |
| 2R                            | Viršutiniai dešinieji paratrachėjiniai limfiniai mazgai            |
| 2L                            | Viršutiniai kairieji paratrachėjiniai limfiniai mazgai             |
| 3a                            | Prevaskuliniai limfiniai mazgai                                    |
| 3p                            | Retrotrachėjiniai limfiniai mazgai                                 |
| 4R                            | Apatiniai dešinieji paratrachėjiniai limfiniai mazgai              |
| 4L                            | Apatiniai kairieji paratrachėjiniai limfiniai mazgai               |
| 5                             | Subaortiniai limfiniai mazgai                                      |
| 6                             | Paraaortiniai limfiniai mazgai                                     |
| 7                             | Bifurkaciniai limfiniai mazgai                                     |
| 8                             | Paraezofaginiai limfiniai mazgai                                   |
| 9                             | Plaučių raiščio limfiniai mazgai                                   |
| 10                            | Plaučio šaknies limfiniai mazgai                                   |
| 11                            | Tarpskiltiniai limfiniai mazgai                                    |
| 12                            | Skiltiniai limfiniai mazgai  |
| 13                            | Segmentiniai limfiniai mazgai                                      |
| 14                            | Subsegmentiniai limfiniai mazgai                                   |

Tarpuplaučio sritinių limfinių mazgų schema, naudojama TNM klasifikacijoje sergantiesiems plaučių vėžiu [127], pavaizduota 2 paveiksle.



*Paveikslas Nr. 2. Numeriais nuo 2-o iki 9-o pavaizduoti N2 lygio limfiniai mazgai, o numeriais nuo 10-o iki 14-o pavaizduoti N1 lygio limfiniai mazgai.*

Aortopulmonalinio lango tarpuplaučio sritinių limfinių mazgų schema, naudojama TNM klasifikacijoje sergantiesiems plaučių vėžiu [127], pavaizduota 3 paveiksle.



*Paveikslas Nr. 3. 5-u ir 6-u numeriais pavaizduoti aortopulmonalinio lango N2 lygio limfiniai mazgai.*

Plaučių vėžys stadijuotas pagal TNM kriterijus [125] ir pavaizduotas 4 lentelėje.

*Lentelė Nr. 4. Plaučių vėžio stadijavimas pagal TNM kriterijus.*

| <b>Stadija</b>     | <b>T</b>   | <b>N</b>   | <b>M</b> |
|--------------------|------------|------------|----------|
| Įtariama karcinoma | Tx         | N0         | M0       |
| 0 stadija          | Tis        | N0         | M0       |
| IA stadija         | T1a        | N0         | M0       |
|                    | T1b        | N0         | M0       |
| IB stadija         | T2a        | N0         | M0       |
| IIA stadija        | T1a        | N1         | M0       |
|                    | T1b        | N1         | M0       |
|                    | T2a        | N1         | M0       |
|                    | T2b        | N0         | M0       |
| IIB stadija        | T2b        | N1         | M0       |
|                    | T3         | N0         | M0       |
| IIIA stadija       | T1         | N2         | M0       |
|                    | T2         | N2         | M0       |
|                    | T3         | N1         | M0       |
|                    | T3         | N2         | M0       |
|                    | T4         | N0         | M0       |
|                    | T4         | N1         | M0       |
| IIIB stadija       | T4         | N2         | M0       |
|                    | Bet koks T | N3         | M0       |
| IV stadija         | Bet koks T | Bet koks N | M1a      |
|                    | Bet koks T | Bet koks N | M1b      |

### 3.5. Ligonio būklės vertinimo kriterijai

Ligonio būklė buvo vertinta pagal Rytų jungtinės onkologų grupės (ECOG; angl. *The Eastern Cooperative Oncology Group*) kriterijus [126] pavaizduota 5 lentelėje.

*Lentelė Nr. 5. Ligonio būklės vertinimas pagal ECOG kriterijus.*

| <b>Laipsnis</b> | <b>Ligonio būklės pagal ECOG kriterijų apibūdinimas</b>                            |
|-----------------|--|
| 0               | Visiškai fiziškai aktyvus, gali atlikti visus iki ligos galėtus atlikti veiksmus   |
| 1               | Negali sunkiai dirbti, tačiau gali atlikti lengvus darbus (namų ruošos, biuro)     |
| 2               | Negali dirbti jokio darbo, tačiau pasirūpina savimi. Pusę dienos praleidžia lovoje |
| 3               | Ribotai gali pasirūpinti savimi, lovoje praleidžia visą dieną                      |
| 4               | Negali pasirūpinti savimi  |
| 5               | Miręs ligonis  |

### 3.6. Plaučių piktybinių navikų histologinių formų klasifikacija

Atliekant šiame darbe aprašomą tyrimą, vadovautasi IASLC siūloma plaučių piktybinių navikų histologine klasifikacija [125], pateikta 6 lentelėje.

*Lentelė Nr. 6. Plaučių piktybinių navikų histologinių formų klasifikacija.*

| Pavadinimas                        | Apibūdinimas   |
|------------------------------------|--|
| Liaukinis vėžys                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ikiinvaziniai pažeidimai:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Atipinė adenomatozinė hiperplazija</li> <li>- Vietiškai plintantis liaukinis navikas</li> </ul> </li> <li>• Minimaliai invazyvus liaukinis vėžys</li> <li>• Invazyvus liaukinis vėžys</li> <li>• Invazyvaus liaukinio vėžio variantai</li> </ul>                     |
| Plokščialąstelinis vėžys           | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ikiinvaziniai pažeidimai:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Displazija</li> <li>- Vietiškai plintantis vėžys</li> </ul> </li> <li>• Vėžys su ląstelių keratizacija</li> <li>• Vėžys be ląstelių keratizacijos</li> <li>• Bazaloidinis vėžys</li> </ul>   |
| Didelių ląstelių vėžys             |  |
| Neuroendokrininiai tumorai         | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ikiinvazinis pažeidimas (difuzinė idiopatinė plaučių neuroendokrinių ląstelių hiperplazija – DIPNECH)</li> <li>• Karcinoidas               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tipinis karcinoidas</li> <li>- Netipinis karcinoidas</li> </ul> </li> <li>• Didelių ląstelių neuroendokrininis vėžys</li> <li>• Smulkių ląstelių vėžys</li> </ul> |
| Liaukinis-plokščialąstelinis vėžys |  |
| Sarkomatoidinė karcinoma           | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pleomorfinis vėžys</li> <li>• Verpstinių (angl. Spindle) ląstelių vėžys</li> <li>• Gigantinių ląstelių vėžys</li> <li>• Karcinosarkoma</li> <li>• Plaučių blastoma</li> </ul>   |
| Kiti ir neklasifikuoti vėžiai      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Limfoepitelioma, panaši į vėžį</li> <li>• NUT vėžys</li> </ul>  |
| Seilių liaukų tumorai              | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mukoepidermoidinis vėžys</li> <li>• Adenoidcistinis vėžys</li> <li>• Epitelinis – mioepitelinis vėžys</li> <li>• Pleomorfinė adenoma</li> </ul>   |
| Papilomos                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Plokščialąstelinė papiloma</li> <li>• Liaukinė papiloma</li> <li>• Mišri plokščialąstelinė ir liaukinė papiloma</li> </ul>  |
| Adenoma                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sklerozuojanti pneumocitoma</li> <li>• Alveolinė adenoma</li> <li>• Papilinė adenoma</li> <li>• Mucininė cistadenoma</li> <li>• Pneumocitinė adenomioepitelioma</li> <li>• Gleivių liaukų adenoma</li> </ul>  |
| Mezenchiminiai navikai             |  |
| Limfohistiocitiniai navikai        |  |
| Ektopinės kilmės navikai           |  |
| Metastatiniai navikai              |  |

### **3.7. Chirurginio gydymo metodika**

Atliekamos plaučio rezekcijos buvo anatomicinė segmentektomija, lobektomija arba pulmonektomija atliekant raumenis išsaugančią priekinę – šoninę torakotomiją. Visiems ligoniams atlikta išplėstinė N1 ir N2 lygio limfadenektomija. Prieš atliekant rezekcinę plaučių operaciją visada kruopščiai apžiūrėta visa pleuros ertmė dėl galimo radiologiniais tyrimais nenustatyto smulkaus vėžinio proceso išsisėjimo krūtinplėvėje, skysčio krūtinplėvėje su ekstra morfologiniu ištyrimu.

#### **3.7.1. Anatomicinė segmentektomija [127]**

Segmentektomiją (su išplėstine N1 ir N2 lygio limfadenektomija) indikuotina atlikti ankstyvų stadijų periferiniu plaučių vėžiu sergantiems ligoniams su susilpninta plaučių funkcija ar kitomis išreikštomis gretutinėmis ligomis. Pirmiausiai randama į šalinamą segmentą įtekanti plaučių arterijos šaka, tada identifikuojamos šalinamo segmento plaučių venos. Kaip taisyklė segmentinis bronchas yra šalia segmentinės arterijos, o arterija identifikuojama tik kartu su segmentiniu bronchu. Visiškai išsiaiškinus anatomines struktūras pirmiausia liguojama ir persiuvama rankiniu būdu arba mechaniniu siuvimo aparatu segmentinė plaučio arterija. Tik tada perpjauamas segmentinis bronchas, kuris gali būti užsiūtas mechaniniu siuvimo aparatu arba rankiniu būdu. Galiausiai liguojama ir papildomai persiuvama plaučių venos segmentinė šaka. Šalinamas plaučio segmentas nuo liekančio sveiko plaučių audinio atidalinamas mechaniniais siuvimo aparatais segmentų sandūros vietose. Nustatant segmentų sandūros vietas naudojama plaučio išpūtimo – subliušimo metodika (nesipučia šalinamas plaučio segmentas dėl rezekuoto segmentinio broncho). Pašalinus segmentą atliekamas oro – skysčio testas plaučio bei broncho siūlių sandarumui nustatyti siekiant išvengti oro nuosrūvio pooperaciniu periodu.

### **3.7.2. Lobektomija [127]**

Lobektomija yra dažniausiai atliekama anatomicinė plaučio rezekcinė operacija. Atlikus torakotominį pjūvį, prieš pasirenkant rezekcinės operacijos apimtį, apžiūros ir palpacijos būdu įvertinami pakitimai plautyje ir tarpuplautyje. Perpjaunamas plaučio raištis iki apatinės plaučio venos pašalinant N8 ir N9 limfinius mazgus. Išpreparuojama plaučio šaknis taip vizualizuojant kraujagyslių struktūras. Atseparuojamas tarpuskiltinis tarpas plaučių arterijos šakoms bei skiltiniam bronchui nustatyti. Pirmiausia (kad navikinės ląstelės nepatektų iš pažeistos plaučio dalies į sisteminę kraujotaką) perrišama plaučio vena, po to ji papildomai persiuvama ir nupjaunama. Išpreparuotos plaučio arterijos (vienu kamienu arba atskiromis segmentinėmis šakomis, priklausomas nuo atliekamos lobektomijos) perrišamos ir papildomai persiuvamos bei nupjaunamos. Bronchas persiuvamas mechaniniu siuvimo aparatu. Esant reikalui, jei šalinama plaučio skiltis yra suaugusi su liekančiu sveiku plaučio audiniu, naudojant mechaninį siuvimo aparatą pašalinama plaučio skiltis. Pašalinus skiltį atliekamas oro – skysčio testas plaučio bei broncho siūlių sandarumui nustatyti siekiant išvengti oro nuosrūvio pooperaciniu periodu.

### **3.7.3. Pulmonektomija [127]**

Pulmonektomija techniškai yra paprasčiausia plaučio rezekcija, tačiau sukelti daugiausiai pooperacinių problemų kvėpavimo ir kraujotakos sistemose. Perpjaunamas plaučio raištis iki apatinės plaučio venos pašalinant N8 ir N9 limfinius mazgus. Išpreparuojama plaučio šaknis taip vizualizuojant kraujagyslių struktūras. Pirmiausia (kad navikinės ląstelės nepatektų iš pažeisto plaučio į sisteminę kraujotaką) perrišamos viršutinė ir apatinė plaučio venos, po to jos papildomai persiuvamos ir nupjaunamos. Išpreparuota plaučio arterija perrišama ir papildomai persiuvama bei nupjaunama. Bronchas persiuvamas mechaniniu siuvimo aparatu. Mechaninė siūlė papildomai sutvirtinama rankiniu būdu. Pašalinus plautį atliekamas oro – skysčio testas broncho siūlės sandarumui nustatyti.

### 3.7.4. Tarpuplaučio limfadenektomija [127]

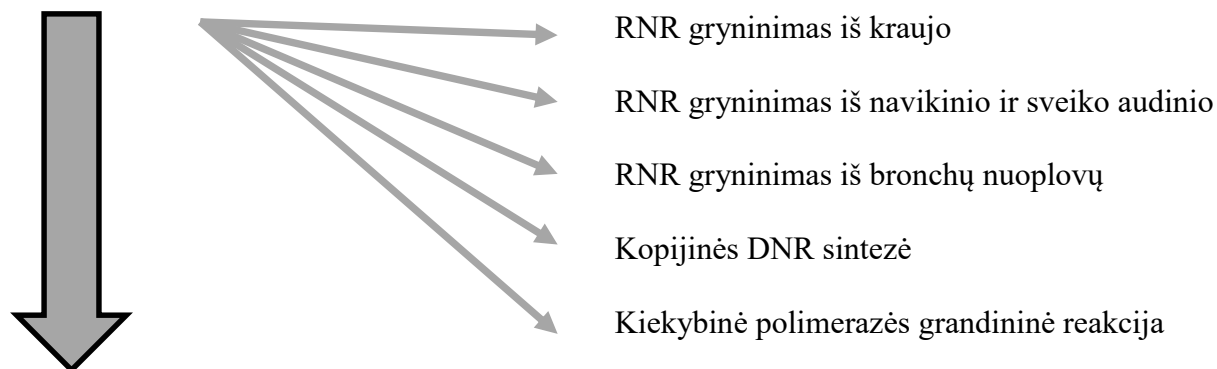
Tarpuplaučio limfiniai mazgai pašalinami vientisu audinių fragmentu, kuriame gali būti navikinės ląstelės: limfiniai mazgai su aplinkine riebaline ląsteliena pagal anatominius orientyrus. Tarpuplaučio ir plaučio šaknies limfiniai mazgai šalinami prieš atliekant plaučio rezekciją, kadangi dėl galimo jų pažeidimo navikinėmis ląstelėmis gali keistis plaučio rezekcinės operacijos apimtis. Šalinant limfinius mazgus dėl galimo pooperacinio chilotorakso svarbu nenutraukti limfagyslių bei nepažeisti paties limfinio mazgo. Atliekant tarpuplaučio limfadenektomiją net ir smulkiausias limfagyslės buvo liguojamos arba klipuojamos. Tarpuplaučio limfinių mazgų šalinimas priklauso nuo pirminio naviko patologijos pusės ir skilties. Atliekant dešinės pusės plaučio rezekcinę operaciją šalinami 2 ir 4 zonos dešinieji tarpuplaučio limfiniai mazgai, dešinio plaučio šaknies 10 zonos limfiniai mazgai, poketeriniai 7 zonos limfiniai mazgai, dešinio plaučio raiščio 9 zonos limfiniai mazgai, dešinieji paraezofaginiai 8 zonos limfiniai mazgai. Atliekant dešinės pusės lobektomiją taip pat šalinami tarpškiltiniai 11 zonos limfiniai mazgai. Operuojant kairę pusę šalinami 2 ir 4 zonos kairieji tarpuplaučio limfiniai mazgai, 3a zonos prevaskuliniai limfiniai mazgai, 5 zonos subaortiniai limfiniai mazgai, 6 zonos paraaortiniai limfiniai mazgai, kairio plaučio šaknies 10 zonos limfiniai mazgai, poketeriniai 7 zonos limfiniai mazgai, kairio plaučio raiščio 9 zonos limfiniai mazgai, kairieji paraezofaginiai 8 zonos limfiniai mazgai. Atliekant kairės pusės lobektomiją taip pat šalinami tarpškiltiniai 11 zonos limfiniai mazgai.



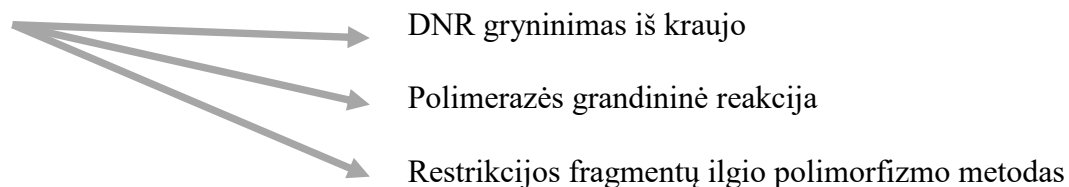
### 3.8. Molekulinės diagnostikos metodika

Molekulinės diagnostikos metodiko schema (pavaizduota 4 pav.):

#### Genų raiškos nustatymas



#### Genų polimorfizmo nustatymas



*Paveikslas Nr. 4. Molekulinės diagnostikos metodikos schema.*

#### 3.8.1. Genų raiškos nustatymas

Genų raiškos nustatymui iš kraujo, navikinio ir sveiko audinio bei bronchų nuoplovų buvo išgryninta RNR, atlikta kopijinės DNR sintezė ir kiekybinė polimerazės grandinė reakcija (PGR). Žemiau pateikiama detali darbo metodika.

### **3.8.1.1. RNR gryninimas iš kraujo**

RNR gryninti iš kraujo naudotas „QIAamp RNA Blood Mini Kit“ (Qiagen, Vokietija) rinkinys ir automatinis nukleorūgščių išskyrimo robotas „QIAcube“ (Qiagen, Vokietija). Darbas atliktas pagal gamintojų instrukcijas.

- Į mikromėgintuvėlyje esantį 1 ml kraujo pripilama 5 ml EL buferinio tirpalo, inkubuojama 10-15 min. lede.
- Centrifuguojama 400xg 10 min. esant 4°C temperatūrai. Supernatantas nupilamas.
- Pripilama 2 ml EL buferinio tirpalo. Ląstelės suspenduojamos.
- Centrifuguojama 400xg 10 min. esant 4°C temperatūrai. Supernatantas nupilamas.
- Pripilama 600 µl RLT buferinio tirpalo, sumaišoma. Centrifuguojama 2 min. maksimaliu greičiu.
- Toliau RNR gryninama automatinio nukleorūgščių išskyrimo roboto „QIAcube“ pagalba.
- RNR grynumas ir koncentracija matuojama spektrofotometru „NanoDrop 2000C“ („Thermo scientific“, JAV).

### **3.8.1.2. RNR gryninimas iš navikinio ir sveiko audinio**

RNR gryninimui iš audinio naudotas „QIAzol® Lysis Reagent“ tirpalas (Qiagen, Vokietija). Gryninimas vykdytas pagal gamintojo instrukcijas.

- Sušaldytas navikinis ar sveikas audinys sutrinamas skystame azote iki miltelių. Milteliai perkeliama į mikromėgintuvėlį, kuriame yra 1 ml lizuojančio buferinio tirpalo „QIAzol“.
- Centrifuguojama 12000xg 10 min. esant 4°C temperatūrai. Supernatantas perpilamas į naują mikromėgintuvėlį, inkubuojama 5 min. esant 15-25°C temperatūrai.
- Pripilama 0,2 ml chloroformo tirpalo, inkubuojama 2-3 min. esant 15-25°C temperatūrai. Centrifuguojama 12000xg 15 min. esant 4°C temperatūrai.
- Į naują mikromėgintuvėlį perpilama viršutinė fazė, pripilama 0,5 ml izopropanolio tirpalo, inkubuojama 10 min. esant 15-25°C temperatūrai.

- Centrifuguojama 12000xg 10 min. esant 4°C temperatūrai. Supernatantas išpilamas, nuosėdos praplaunamos 1 ml 75% etanolio tirpalu. Centrifuguojama 7500xg 5 min. esant 4°C temperatūrai.
- Nuosėdos tirpinamos 88 µl vandenyje be nukleazių. Genominės DNR priemaišos pašalinamos veikiant fermentu DNaze I. Inkubuojama 15 min. 37°C temperatūroje.
- Į mikromėgintuvėlį pripilama 100 µl rūgštaus fenolio ir chloroformo mišinio. Centrifuguojama 14000xg 15 min. esant 4°C temperatūrai.
- Viršutinė fazė perpilama į naują mikromėgintuvėlį. Pripilama 100 µl chloroformo tirpalo. Centrifuguojama 14000xg 5 min. esant 4°C temperatūrai.
- Viršutinė fazė perpilama į naują mikromėgintuvėlį. Pripilama 100 µl amonio acetato ir 100 µl izopropanolio tirpalo. Inkubuojama 30 min. esant -20°C temperatūrai.
- Centrifuguojama 14000xg 15 min. esant 4°C temperatūrai. Nuosėdos tirpinamos 50 µl vandenyje be nukleazių.
- RNR grynumas ir koncentracija matuojama spektrofotometru „NanoDrop 2000C“ („Thermo scientific“, JAV).

### 3.8.1.3. RNR gryninimas iš bronchų nuoplovų

RNR gryninimui iš bronchinių nuoplovų naudotas „RNeasy® Plus Mini Kit“ rinkinys („QIAGEN“, Vokietija). Gryninimas vykdytas pagal gamintojo instrukcijas.

- Į švarų mėgintuvėlį įpylus nuo 200 iki 250 µl bronchų nuoplovų papildomai įpilama 6 µl β-merkaptoetanolio ir 600 µl „Buffer RLT Plus“ buferinio tirpalo mišinio. Supilti komponentai kruopščiai sumaišomi.
- 600 µl mišinio supilama į „QIAshredder Mini Spin“ kolonėlę. Centrifuguojama didžiausiu greičiu 2 minutes.
- Homogenizuotas tirpalas supilamas į 2 ml mėgintuvėlį, įdedamas į „gDNA Eliminator Spin“ kolonėlę. Centrifuguojama 30 sekundžių  $\geq 8000 \times g$  jėga.

- Į gautą lizatą įpilama 600 µl 70% etanolio tirpalo, naudojant pipetavimą sumaišoma.
- Iki 700 µl gauto tirpalo supilama į 2 ml mėgintuvėlį, įdedama į „Rneasy Mini Spin“ kolonėlę. Centrifuguojama 15 sekundžių  $\geq 8000 \times g$  jėga. Visa tai pakartojama su likusiu tirpalu.
- Į „RNeasy Mini Spin“ kolonėlę įpilama 700 µl „Buffer RW1“ buferinio tirpalo. Centrifuguojama 15 sekundžių  $\geq 8000 \times g$  jėga.
- Į „RNeasy Mini Spin“ kolonėlę įpilama 500 µl „Buffer RPE“ buferinio tirpalo. Centrifuguojama 15 sekundžių  $\geq 8000 \times g$  jėga.
- Į „RNeasy Mini Spin“ kolonėlę įpilama dar 500 µl „Buffer RPE“ buferinio tirpalo. Centrifuguojama 2 minutes  $\geq 8000 \times g$  jėga.
- „RNeasy Mini Spin“ kolonėlė perkeliama į švarų 2 ml mėgintuvėlį. Centrifuguojama didžiausiu greičiu 1 minutę.
- „RNeasy Mini Spin“ kolonėlė perkeliama į švarų 1,5 ml mėgintuvėlį, į jį papildomai įpilama 20 µl vandens be nukleazių. Centrifuguojama 1 minutę  $\geq 8000 \times g$  jėga.
- Išgrynintos RNR koncentracija ir kokybė matuojama „NanoDrop 200c“ spektrofotometru. Išgryninta ir patikrinta RNR saugoma – 20°C temperatūroje.

#### **3.8.1.4. Kopijinės DNR sintezė**

Kopijinės DNR (kDNR) sintezei buvo naudotas kopijinės DNR pirmos grandinės sintezės rinkinys „RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit“ („Thermo scientific“, Lietuva). Darbas atliktas pagal gamintojų instrukcijas.

Paruoštas reakcijos mišinys iš 0,1-1 µg RNR, 1µl statistinės sekos pradmens ir 12 µl vandens be nukleazių inkubuojamas 70°C temperatūroje 5 min. Į mišinį pripilama 4 µl 5x reakcijos buferinio tirpalo, 1 µl ribonukleazių inhibitoriaus, 1 µl atvirkštinės transkriptazės ir 2 µl 10mM dNTP mišinio. Reakcijos mišinys inkubuojamas 25°C temperatūroje 10 min. ir 42°C temperatūroje 50 min.

### 3.8.1.5. Kiekybinė polimerazės grandininė reakcija

Kiekvienai pradmenų porai paruošiamas kiekybinės polimerazės grandininės reakcijos (PGR) mišinys:

- *ERCC1*: 2 µl kDNR, 12,5 µl 2xPGR buferinio tirpalo, 2 µl tiesioginio pradmens, 2 µl atvirkštinio pradmens ir vandens iki 25 µl;
- *RRM1*: 2 µl kDNR, 12,5 µl 2xPGR buferinio tirpalo, 2 µl tiesioginio pradmens, 2 µl atvirkštinio pradmens ir vandens iki 25 µl;
- *β-aktinas*: 2 µl kDNR, 12,5 µl 2xPGR buferinio tirpalo, 2 µl tiesioginio pradmens, 2 µl atvirkštinio pradmens ir vandens iki 25 µl.

*ERCC1*, *RRM1*, *β-aktino* kiekybinės PGR reakcija atlikta tokiais temperatūriniais režimais: pradinis ciklas – denatūracija 5 min. 95°C; 40 vienodų ciklų: denatūraciją 15 s 95°C, pradmens prisijungimas 15 s 60°C, DNR grandinės pratęsimas 15 s 72°C.

*ERCC1*, *RRM1*, *β-aktino* genų raiška nustatyta „Mastercycler® ep realplex“ („Eppendorf“, Vokietija) prietaisu. Visiems tiriamiesiems genams raiškos analizė pakartota tris kartus, *β-aktinas* naudotas kaip endogeninė kontrolė. Genų raiškos pokyčiai apskaičiuoti  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  metodu pagal formulę:

$2^{-\Delta\Delta C_t} = (C_T \text{ tiriamasis genas} - C_T \text{ endogeninė kontrolė}) \text{ navikinis audinys} - (C_T \text{ tiriamasis genas} - C_T \text{ endogeninė kontrolė}) \text{ sveikas audinys}$

Genų raiškai analizuoti naudoti pradmenys (“IDT”, JAV) pateikti 7 lentelėje.

Lentelė Nr. 7. Kiekybinei PGR atlikti naudoti pradmenys.

| Genas            | Pradmenų sekos  |
|------------------|---|
| <i>ERCC1</i>     | 5' – GGG AATTTGGCGACGTAATTC – 3'<br>5' – GCGGAGGCTGAGGAACAG – 3'          |
| <i>RRM1</i>      | 5' – AAGAGCAGCGTGCCAGAGAT – 3'<br>5' – ACACATCAAAGACCAGTCCTGATTAG – 3'    |
| <i>β-aktinas</i> | 5' – AACTGGTCTCAAGTCAGTGTACAGG – 3'<br>5' – TCCCCCAACTTGAGATGTATGAAG – 3' |

### 3.8.2. Genų polimorfizmo nustatymas

Genų vieno nukleotido polimorfizmo analizė susideda iš trijų etapų: DNR gryninimas iš kraujo, polimerazės grandininė reakcija (PGR) ir restrikcijos fragmento ilgio polimorfizmo (RFIP) metodas.

#### 3.8.2.1. DNR gryninimas iš kraujo

Genominės DNR gryninimui iš kraujo naudotas „GeneJET Genomic DNA purification kit” rinkinys („Thermo scientific“, Lietuva). Gryninimas vykdytas pagal gamintojo instrukcijas.

- 200 µl kraujo sumaišoma su 400 µl lizuojančio tirpalo, kuriame yra 20 µl proteinazės K tirpalo. Mišinys inkubuojamas 10 min. esant 56°C temperatūrai.
- Į mišinį įpilama 200 µl 96% etanolio tirpalo, sumaišoma, perkeliama į mikromėgintuvėlį su gryninimo kolonėle, centrifuguojama 6000xg 1 min.
- Kolonėlė perkeliama į naują mikromėgintuvėlį, pripilama 500 µl „Wash Buffer I“ buferinio tirpalo, centrifuguojama 6000xg 1 min.
- Pripilama 500 µl „Wash Buffer II“ buferinio tirpalo, centrifuguojama 3 min. maksimaliu greičiu.
- Kolonėlė perkeliama į naują mikromėgintuvėlį, pripilama 100 µl „Elution Buffer“ buferinio tirpalo, inkubuojama kambario temperatūroje 2 min., centrifuguojama 8000xg 1 min.
- DNR grynumas ir koncentracija matuojama spektrofotometru „NanoDrop 2000C“ („Thermo scientific“, JAV).

#### 3.8.2.2. Polimerazės grandininė reakcija

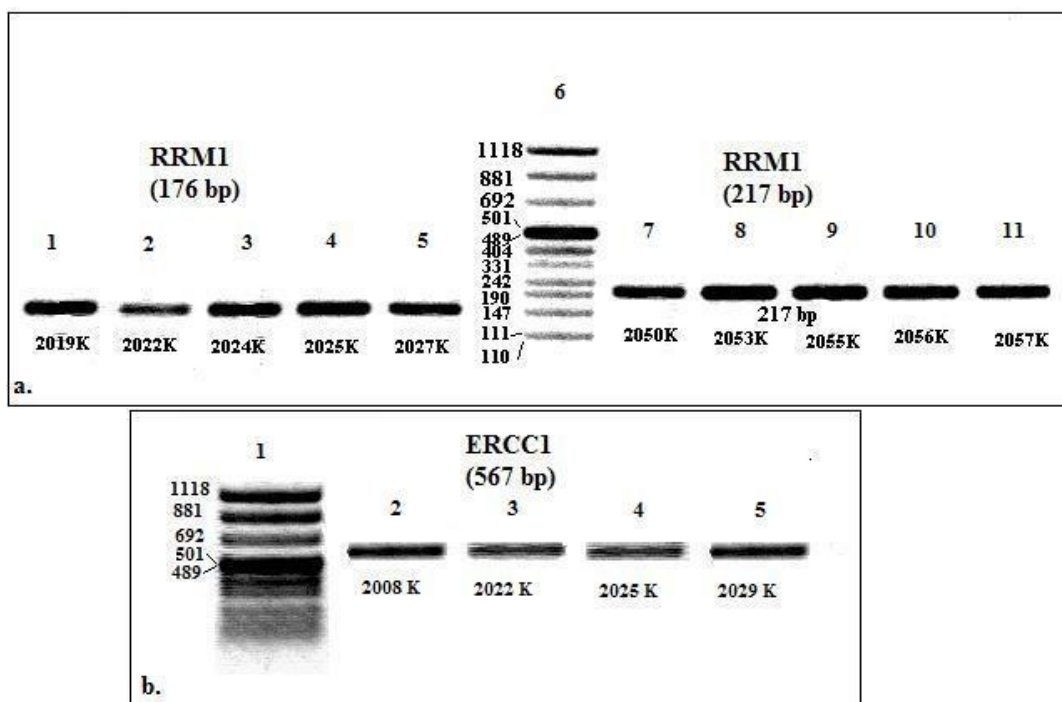
*ERCCI* (118 kod. C→T), *RRMI* (-37 C→A) ir *RRMI* (-524 C→T) polimorfizmo analizei paruošti atskiri PGR mišiniai. PGR mišinį sudaro 5 µl DNR, 2,5 µl 10x PGR buferinio tirpalo, 0,5 µl 10mM dNTP, 2,5 µl MgCl<sub>2</sub>, 25 pmol tiesioginio pradmens, 25 pmol atvirkštinio pradmens, 0,2 µl *Taq* DNR polimerazės ir vandens be nukleazių iki 25 µl. Polimorfizmo analizei naudoti pradmenys bei temperatūrinis režimas pateikti 8 lentelėje.

Lentelė Nr. 8. PGR atlikti naudoti pradmenys ir sąlygos.

| Pradmenų sekos   | PGR sąlygos  |               |            |                | Produkto dydis |
|--|--------------|---------------|------------|----------------|----------------|
|  | denatūracija | prisijungimas | pratęsimas | ciklų skaičius |                |
| <i>ERCC1</i> (118 kod. C→T)<br>5'-GCTTGAAAAGACCCTGCCACA-3'<br>5'-TCAGATCCCCAGGAGTCC-3' | 95° – 45 s   | 58° – 45 s    | 72° – 45 s | 30             | 576 bp         |
| <i>RRM1</i> (-37 C→A)<br>5'-CTGCTCAGGGGAAAGAACTG-3'<br>5'-GGTCTTGCCAGACTCAACA-3'       | 95° – 30 s   | 56° – 30 s    | 72° – 30 s | 35             | 176 bp         |
| <i>RRM1</i> (-524 C→T)<br>5'-CTTTTAGATCGGCCAGAGGA-3'<br>5'-ATACCCTGTCTCTGCCACCA-3'     | 95° – 45 s   | 57° – 45 s    | 72° – 30 s | 35             | 217 bp         |

8 lentelėje pavaizduoti polimorfizmo analizei naudoti pradmenys bei temperatūrinis režimas.

PGR produktai analizuojami 1% agarozės gelyje ir lyginami su DNR ilgio standartu. Gauti rezultatai fotografuojami UV šviesoje (5 pav.).



Paveikslas Nr. 5. PGR produktų analizė 1% agarozės gelyje. a) 1-5 takeliuose RRM1 176 bp PGR produktas, 7-11 takeliuose RRM1 217 bp produktas, 6 takelyje DNR ilgio standartas “pUC Mix Marker 8”; b) 1 takelyje DNR ilgio standartas “pUC Mix Marker 8”, 2-5 takeliuose ERCC1 PGR produktai.

### 3.8.2.3. Restrikcijos fragmentų ilgio polimorfizmo metodas

Kiekvieno tiriamo geno polimorfizmo PGR produktų analizei restrikcijos fragmento ilgio polimorfizmo (RFIP) metodu paruošiamas restrikcijos mišinys.

1. *ERCCI* (118 kod. C→T): 10 µl PGR produkto, 2 µl Buffer R tirpalo, 1 µl BseMI restrikcijos endonukleazės, vandens iki 30 µl. Reakcija vykdoma esant 55°C temperatūrai vandens vonioje 1 val.

Restrikcijos endonukleazė BseMI karmo PGR metodu gautą produktą tokiais fragmentais:

- Esant C/C genotipui – 567 bp;
- Esant C/T genotipui – 567, 356 ir 211 bp;
- Esant T/T genotipui – 356 ir 211 bp.

2. *RRM1* (-37 C→A): 10 µl PGR produkto, 2 µl Buffer G tirpalo, 1 µl BpiI restrikcijos endonukleazės, vandens iki 30 µl. Reakcija vykdoma esant 37°C temperatūrai vandens vonioje 1 val. Restrikcijos endonukleazė BpiI karmo PGR metodu gautą produktą tokiais fragmentais:

- Esant C/C genotipui – 217 bp;
- Esant C/A genotipui – 217, 156 ir 57 bp;
- Esant A/A genotipui – 156 ir 57 bp.

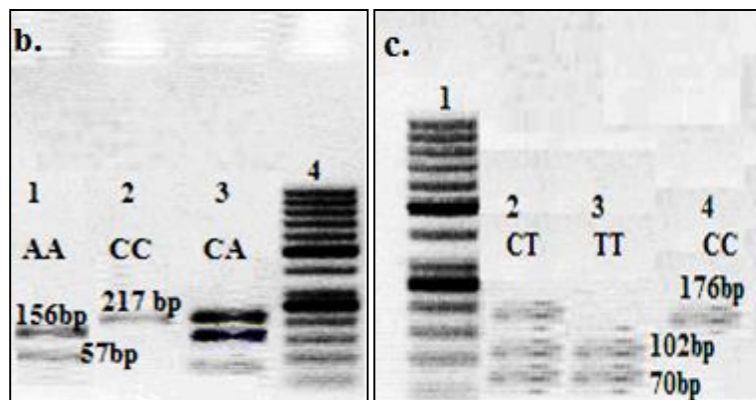
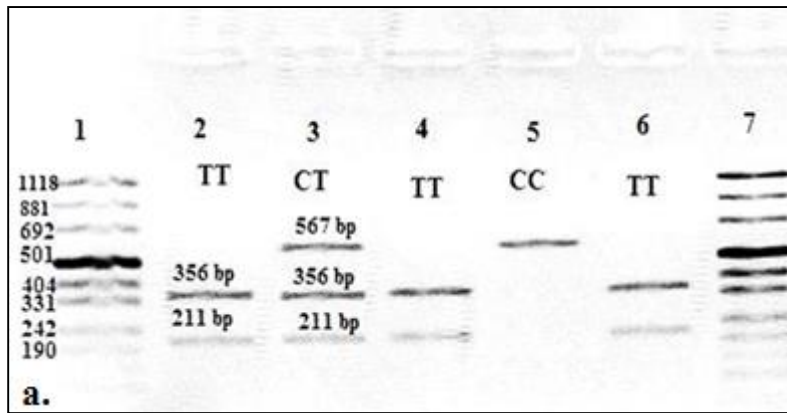
3. *RRM1* (-524 C→T): 10 µl PGR produkto, 2 µl Tango Buffer tirpalo, 1 µl XapI restrikcijos endonukleazės, vandens iki 30 µl. Reakcija vykdoma esant 37°C temperatūrai vandens vonioje 1 val.

Restrikcijos endonukleazė XapI karmo PGR metodu gautą *RRM1* (-524 C→T) produktą tokiais fragmentais:

- Esant C/C genotipui – 176 bp;
- Esant C/T genotipui – 176, 102 ir 70 bp;
- Esant T/T genotipui – 102 ir 70 bp.

RFIP metodu gauti produktai analizuojami 2,0% agarozės gelyje. Gauti rezultatai fotografuojami UV šviesoje (6 pav).





*Paveikslas Nr. 6. PGR produktų analizė restrikcijos fragmentų ilgio polimorfizmo (RFIP) metodu 2% agarozės gelyje: a) 1 ir 7 takeliuose DNR ilgio standartas “pUC Mix Marker 8”, 2-6 takeliuose ERCC1 PGR produktų restrikcijos produktai; b) 1-3 takeliuose RRM1 (217 bp) PGR produktų restrikcijos produktai, 4 takelyje DNR ilgio standartas “GeneRuler 100bp DNA Ladder”; c) 2-4 takeliuose RRM1 (176 bp) PGR produktų restrikcijos produktai, 1 takelyje DNR ilgio standartas “GeneRuler 100bp DNA Ladder”.*

### **3.9. Pooperacinės adjuvantinės chemoterapijos metodika**

Visiems ligoniams po radiklios operacijos buvo skirta Etopozido kartu su Platinos preparatu schemos adjuvantinė chemoterapija, realizuoti 4 gydymo kursai kas 3 savaitės. Gydymas buvo pradėtas 3 – 4 savaitės po chirurginio gydymo pabaigos. Esant kompensuotiems kraujo tyrimų rodikliams buvo skirta chemoterapija. Chemoterapija buvo atliekama infuzijos būdu lėtai leidžiant vaistus sistemiškai į veną. Infuzijai naudota periferinė rankos vena.

Chemoterapija skirta derinant du preparatus: Platinos preparatas kartu su Etopozidu. Chemoterapijai taikyti preparatai:

- Cisplatina, kurios dozavimas pagal ligonio kūno paviršiaus plotą  $80 \text{ mg/m}^2$ . Cisplatina yra citostatikas, vartojamas plaučių vėžiui gydyti ir dažniausiai naudojama deriniuose su kitais chemopreparatais. Skiriant Cisplatiną visada buvo atsižvelgiama į ligonio gretutines ligas ir kitų vaistų vartojimą siekiant išvengti nepageidaujamo šalutinio poveikio (inkstų ir šlapimo takų sutrikimai, mieloidinio audinio funkcijos sutrikimai, virškinimo trakto sutrikimai, ausies ir labirinto sutrikimai, akies sutrikimai, nervų sistemos sutrikimai, elektrolitų pusiausvyros kraujo serume sutrikimai, alerginės reakcijos, širdies sutrikimai, imuninės sistemos sutrikimai, nuplikimas).
- Arba Karboplatina, kuri dozuota pagal inkstų kreatinino klirensą (AUC) – skirta 5 AUC. Karboplatina yra citostatikas, vartojamas plaučių vėžiui gydyti ir dažniausiai naudojama deriniuose su kitais chemopreparatais. Skiriant Karboplatiną visada buvo atsižvelgiama į ligonio gretutines ligas ir kitų vaistų vartojimą siekiant išvengti nepageidaujamo šalutinio poveikio (kraujo ir limfinės sistemos sutrikimai, virškinimo trakto sutrikimai, nervų sistemos sutrikimai, ausies ir labirinto sutrikimai, inkstų sutrikimai, elektrolitų disbalansas, kepenų sutrikimai, alerginės reakcijos, nuplikimas).
- Etopozidas, kuris dozuotas pagal ligonio kūno paviršiaus plotą  $120 \text{ mg/m}^2$ . Etopozidas yra citostatikas, vartojamas plaučių vėžiui gydyti ir dažniausiai naudojama deriniuose su kitais chemopreparatais. Skiriant Etopozidą visada buvo atsižvelgiama į ligonio gretutines ligas ir kitų vaistų vartojimą siekiant išvengti nepageidaujamo šalutinio poveikio (toksinis poveikis kraujodarai, toksinis poveikis virškinimo traktui, nuplikimas, kraujospūdžio pokyčiai, alerginės reakcijos, metabolinės komplikacijos).

### **3.10. Ligonų stebėjimas**

Po adjuvantinės 4 kursų chemoterapijos pagal PE schemą nesant ligos progresavimo ligoniai buvo stebimi gydytojų. Kas 3 mėnesius lankėsi NVI poliklinikoje, buvo apklausiami dėl nusiskundimų,

atliekamas rentgenologinis krūtinės ląstos tyrimas, bendras kraujo tyrimas. Įvertinus naujai atsiradusius skundus bei rentgenologiškai atsiradusius pakitimus krūtinėje, įtariant ligos progresavimą ar atsinaujinimą, papildomai buvo atliekamas vidaus organų ir viršraktikaulinių limfinių mazgų ultragarsinis tyrimas, krūtinės arba krūtinės ir pilvo kompiuterinės tomografijos tyrimas. Naujų židinių atsiradimas buvo vertinamas kaip ligos progresavimas vadovaujantis solidinių navikų atsako į gydymą vertinimo kriterijais (RECIST, (Response, evaluation criteria in solid tumors)), ligoniams buvo skiriamas tolesnis chemoterapinis gydymas. Tolesnis stebėjimas buvo taikomas ligoniams, kuriems atlikus tyrimus nenustatytas ligos progresavimas.

### 3.11. Statistinė duomenų analizė

Kiekybinių kintamųjų vertinimui buvo apskaičiuoti vidurkiai, standartiniai nuokrypiai, minimali bei maksimali kintamųjų reikšmės. Kintamųjų tarpusavio priklausomumui tikrinti taikytas *chi* kvadratas ( $\chi^2$ ).

Statistinis reikšmingumas įvertintas pasirinkiant reikšmingumo lygmenį  $\alpha=0,05$ , kai  $p<0,05$ . Ryšio stiprumas tarp kiekybinių kintamųjų nustatytas apskaičiuojant Spirmeno (*angl. Spearman*) koreliacijos koeficientą (*r*). Koreliacija vertinta kaip labai silpna, jei *r* buvo mažiau už 0,20; silpna – jei *r* reikšmė buvo 0,20-0,49 intervale; vidutinė – jei *r* reikšmė buvo 0,50-0,69 intervale; stipri – jei *r* reikšmė buvo 0,70-0,99 intervale, labai stipri – jei *r* reikšmė buvo lygi 1,00.

Stebėjimo duomenys buvo nuasmeninti, nes didžioji dauguma pacientų stebėjimo laikotarpį išgyveno. Ligos progresavimas analizuotas pritaikius Kaplano-Majerio (*angl. Kaplan-Meier*) metodą. Ligos progresavimo kreivėms palyginti naudotas *log-rank* testas. Ligos progresavimo veiksnių prognozinė analizė atlikta pritaikius Kokso daugialypį proporcingų rizikų regresijos (*angl. Cox regression*) analizės modelį.

Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant duomenų analizės programų paketą SPSS (*angl. Statistical Package for the Social Sciences*) 22.0 versiją.

## 4. Darbo rezultatai

Šiame perspektyviniame, žvalgomajame tyrime dalyvavo 80 pacientų, kuriems 2012 – 2015 metais pirmą kartą diagnozuotas IB – IIIA stadijų nesmulkiaštelis plaučių vėžys. Pacientai gydyti NVI (tyrimo pradžioje gydymo įstaigos pavadinimas buvo VUOI) pagal patvirtintus gydymo standartus. Į tyrimą buvo įtraukiami tik tie pacientai, kuriems atlikus tyrimus pagal 2009 metais IASLC patvirtintą 7-ąją plaučių vėžio TNM klasifikaciją gydymą buvo galima pradėti nuo operacijos. Operacijos apimtis (anatominė segmentektomija, lobektomija, pulmonektomija) buvo nustatoma individualiai kiekvienam pacientui pagal navikinio proceso vietą bei išplitimą. Taip pat visiems pacientams atlikta išplėstinė tarpuplaučio limfadenektomija. Operacijos metu pašalinus naviką gydytojas patologas preparate mikroskopiškai nustatydavo naviką ir iš jo paimdavo fragmentą, kraujas iš venos bei skrepliai iš bronchų buvo imami operacinėje. Visa ši medžiaga skirta *ERCCI* bei *RRMI* genų raiškai ir jų polimorfizmui šiuose mėginiuose nustatyti. Po radikalaus operacinio gydymo visiems pacientams buvo taikoma adjuvantinė pooperacinė chemoterapija pagal schemą platinos preparatas ir etopozidas (4 adjuvantinės chemoterapijos kursai). Po adjuvantinės chemoterapijos (4 mėnesiai po chirurginio gydymo) pacientui pakartotinai imtas kraujo tyrimas *ERCCI* ir *RRMI* genų raiškai nustatyti. Nesant progresavimo pacientas stebėtas ir papildomai vieneri metai po operacinio gydymo imtas kraujo tyrimas *ERCCI* ir *RRMI* genų raiškai nustatyti. Stebėjimo metu nustačius ligos progresavimą skirta antros eilės chemoterapija arba/ir radioterapija, imtas kraujo tyrimas *ERCCI* ir *RRMI* genų raiškai nustatyti.

### 4.1. Tyrime dalyvavusių pacientų charakteristikos

Tyrime dalyvavę pacientai (n=80) buvo suskirstyti į grupes pagal lytį, amžių, rūkymą, naviko lokalizaciją, naviko morfologiją, naviko diferenciacijos laipsnį, ligos stadiją, naviko dydį, limfinių mazgų pažeidimą, operacijos tipą, ligos eigą, pooperacines komplikacijas bei komplikacijas po chemoterapijos.

Iš lentelėje Nr. 9 pateiktų duomenų matyti, kad didžiausią pacientų grupę sudarė vyrai (92%). Sergantieji pagal amžių suskirstyti į 2 lygias grupes po 40 pacientų: ≤ 63 metų ir > 63 metų. Beveik 90% pacientų rūkė. Periferinis navikas identifikuotas 69% pacientų. Morfologiškai nustatyta adenokarcinoma (39%) arba plokščialąstelinė karcinoma (61%). 62% pacientų nustatyta blogai diferencijuota (G3) karcinoma. IB ir IIA stadijų nesmulkiaūsteliu plaučių vėžiu sirgo 67% pacientų. 56% pacientų buvo patvirtintas T2A naviko dydis. 31% pacientų nustatytas naviko plitimas į N1 lygio limfinius mazgus, 11% navikas buvo išplitęs į N2 lygio limfinius mazgus, o 58% pacientų limfiniai mazgai nebuvo pažeisti. Įvertinus naviko dydį ir vietą buvo parinktas operacijos tipas. 67% pacientų atlikta lobektomija, 20% - pulmonektomija, 9% - anatomicinė segmentektomija ir tik 3 pacientams (4%) atlikta bilobektomija. 20 pacientų (25%) po gydymo buvo nustatytas ligos progresavimas, o likusiems stebėta ligos remisija. Po radiklios operacijos prieš pradedant pooperacinę chemoterapiją 10 pacientų (12%) stebėtos pooperacinės komplikacijos, kurios neprailgino gulėjimo stacionare laiko ir buvo išgydytos konservatyviai be papildomo chirurginio įsikišimo bei nekėlė grėsmės tolesniam pooperaciniam gydymui. Pooperacinės chemoterapijos metu 68 pacientams (83%) stebėtos I – II laipsnio komplikacijos, kurios gyvybei pavojaus nekėlė ir gydymo dėl to nutraukti nereikėjo.

Lentelė Nr. 9. Pacientų pasiskirstymas pagal kliniškes charakteristikas.

| Parametras                      | Pacientų skaičius n (%) |
|---------------------------------|-------------------------|
| Lytis                           |                         |
| Vyras                           | 74 (92)                 |
| Moteris                         | 6 (8)                   |
| Amžius                          |                         |
| ≤ 63 metų                       | 40 (50)                 |
| > 63 metų                       | 40 (50)                 |
| Rūkymas                         |                         |
| Rūko                            | 71 (89)                 |
| Nerūko                          | 9 (11)                  |
| Naviko lokalizacija             |                         |
| Centrinis navikas               | 25 (31)                 |
| Periferinis navikas             | 55 (69)                 |
| Naviko histologinis tipas       |                         |
| Adenokarcinoma                  | 31 (39)                 |
| Plokščialąstelinė karcinoma     | 49 (61)                 |
| Naviko diferenciacijos laipsnis |                         |
| G1                              | 6 (8)                   |
| G2                              | 24 (30)                 |
| G3                              | 50 (62)                 |
| Stadija                         |                         |
| IB stadija                      | 30 (37)                 |
| IIA stadija                     | 24 (30)                 |
| IIB stadija                     | 12 (15)                 |
| IIIA stadija                    | 14 (18)                 |
| Naviko dydis                    |                         |
| T1A                             | 2 (2)                   |
| T1B                             | 6 (8)                   |
| T2A                             | 45 (56)                 |
| T2B                             | 11 (14)                 |
| T3                              | 15 (19)                 |
| T4                              | 1 (1)                   |
| Limfinių mazgų būklė            |                         |
| N0                              | 46 (58)                 |
| N1                              | 25 (31)                 |
| N2                              | 9 (11)                  |
| Operacijos tipas                |                         |
| Bilobektomija                   | 3 (4)                   |
| Lobektomija                     | 54 (67)                 |
| Pulmonektomija                  | 16 (20)                 |
| Segmentektomija                 | 7 (9)                   |
| Ligos eiga                      |                         |
| Ligos progresavimas             | 16 (20)                 |
| Stabili liga                    | 64 (80)                 |
| Pooperacinė komplikacija        |                         |
| Pneumonija                      | 2 (2)                   |
| Oro nuosrūvis                   | 5 (6)                   |
| Žaizdos hematoma                | 3 (4)                   |
| Komplikacija po chemoterapijos  |                         |
| I-II laipsnio pykinimas         | 60 (75)                 |
| I-II laipsnio leukocitopenija   | 8 (10)                  |

## 4.2. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos tyrimas sergančiųjų nesmulkiažsteliu plaučių vėžiu mėginiuose

Tyrime dalyvavusius pacientus tarp įvairių grupių su *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška navike, kraujyje bei bronchų sekrete prieš gydymą, taip pat su *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška kraujyje 4 mėnesiai ir 12 mėnesių po operacijos lyginome pasitelkę daugiafaktorinę dispersinę analizę.

Pradedant gydymą operacijos dieną visiems pacientams buvo nustatyta *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška navike, kraujyje ir bronchų sekrete. Skirtingos raiškos *ERCC1* ir *RRM1* genų reikšmės buvo klasterizuotos naudojant plačiausiai naudojamą k-vidurkių (angl. *K-Means*) klasterizavimo algoritimą. Duomenys pateikti 10 lentelėje.

Lentelė Nr. 10. *ERCC1* ir *RRM1* genų mažos ir didelės raiškos pasiskirstymas navike, kraujyje ir bronchų sekrete.

| Genas  | Geno raiškos pokytis                  | Klasterio centras | p      | Pacientų skaičius n (%) |
|--|---------------------------------------|-------------------|--------|-------------------------|
| <i>ERCC1</i> geno raiška navike                | Maža raiška<br>0,165053 - 5,602225    | 2,028779          | <0,001 | 71 (88,8)               |
|  | Didelė raiška<br>8,374482 - 11,88442  | 9,666228          |        | 9 (11,2)                |
| <i>ERCC1</i> geno raiška bronchų sekrete       | Maža raiška<br>0,030000 - 5,598300    | 1,397200          | <0,001 | 74 (92,5)               |
|  | Didelė raiška<br>8,168100 - 15,401500 | 11,766420         |        | 6 (7,5)                 |
| <i>ERCC1</i> geno raiška kraujyje prieš gydymą | Maža raiška<br>0,111028 - 1,314032    | 0,662508          | <0,001 | 62 (77,5)               |
|  | Didelė raiška<br>1,403472 - 4,328898  | 2,011253          |        | 18 (22,5)               |
| <i>ERCC1</i> geno raiška po 4 mėn.             | Maža raiška<br>0,39202 - 3,3572       | 1,275721          | <0,001 | 74 (93,67)              |
|  | Didelė raiška<br>4,45921 - 6,584163   | 5,672042          |        | 5 (6,33)                |
| <i>ERCC1</i> geno raiška po 12 mėn.            | Maža raiška<br>0,36102 - 3,06803      | 0,392020          | <0,001 | 62 (84,94)              |
|  | Didelė raiška<br>3,85125 - 7,84536    | 6,584163          |        | 11 (15,06)              |
| <i>RRM1</i> geno raiška navike                 | Maža raiška<br>0,301026 - 5,658815    | 3,036069          | <0,001 | 65 (81,2)               |
|  | Didelė raiška<br>5,797778 - 12,82156  | 9,673688          |        | 15 (18,8)               |
| <i>RRM1</i> geno raiška bronchų sekrete        | Maža raiška<br>0,001600 - 4,559900    | 1,532254          | <0,001 | 69 (86,2)               |
|  | Didelė raiška<br>4,955400 - 13,306000 | 7,766034          |        | 11 (13,8)               |
| <i>RRM1</i> geno raiška kraujyje prieš gydymą  | Maža raiška<br>0,000785 - 2,280316    | 0,801508          | <0,001 | 68 (85,0)               |
|  | Didelė raiška<br>2,397449 - 4,615542  | 2,738428          |        | 12 (15,0)               |
| <i>RRM1</i> geno raiška po 4 mėn.              | Maža raiška<br>0,091284 - 2,900899    | 1,543764          | <0,001 | 65 (89,04)              |
|  | Didelė raiška<br>3,247196 - 6,641458  | 4,63275           |        | 14 (19,18)              |
| <i>RRM1</i> geno raiška po 12 mėn.             | Maža raiška<br>0,28942 - 2,91205      | 1,59440           | <0,001 | 56 (76,71)              |
|  | Didelė raiška<br>3,10372 - 7,07642    | 4,38666           |        | 17 (23,29)              |

Pasirinkti du klasteriai, kadangi duomenys buvo suskirstyti į dvi grupes pagal *ERCC1* ir *RRM1* genų mažą ir didelę raišką.



#### 4.2.1. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos tyrimas navike

*ERCC1* ir *RRM1* genų raiška buvo tirta sergančiųjų nesmulkiaūsteliu plaučių vėžiu navikuose. Remiantis vidutine genų raiškos reikšme pacientai suskirstyti į mažos ir didelės genų raiškos grupes bei vertintos šių grupių sąsajos su pacientų lytimi, amžiumi, rūkymu, naviko lokalizacija, histologiniu tipu, naviko diferenciacijos laipsniu ir dydžiu, ligos stadija, limfinių mazgų būkle ir ligos eiga (11 lentelė). Maža *ERCC1* raiška navike nustatyta 71 pacientui, o didelė *ERCC1* raiška navike nustatyta 9 pacientams ( $p < 0,001$ ). Atitinkamai maža *RRM1* raiška navike nustatyta 65 pacientams, tuo tarpu didelė *RRM1* raiška navike nustatyta 15 pacientų ( $p < 0,001$ ).

Lentelė Nr. 11. ERCCI ir RMMI genų raiškos navike sąsaja su pacientų lytimi, amžiumi ir klinikinėmis patologinėmis charakteristikomis.

| Parametras                      | ERCCI raiška navike |                      |       | RMMI raiška navike |                      |       |
|---------------------------------|---------------------|----------------------|-------|--------------------|----------------------|-------|
|                                 | Maža raiška, n (%)  | Didelė raiška, n (%) | p     | Maža raiška, n (%) | Didelė raiška, n (%) | p     |
| Lytis                           | 65 (87,8)           | 9 (12,2)             | 0,365 | 59 (79,7)          | 15 (20,3)            | 0,221 |
| Vyras                           |                     |                      |       |                    |                      |       |
| Moteris                         | 6 (100,0)           | 0                    |       | 6 (100,0)          | 0                    |       |
| Amžius                          |                     |                      | 0,665 |                    |                      | 0,694 |
| ≤ 63 metų                       | 37 (90,2)           | 4 (9,8)              |       | 34 (82,9)          | 7 (17,1)             |       |
| >63 metų                        | 34 (87,2)           | 5 (12,8)             |       | 31 (79,5)          | 8 (20,5)             |       |
| Rūkymas                         |                     |                      | 0,269 |                    |                      | 0,126 |
| Rūko                            | 64 (90,1)           | 7 (9,9)              |       | 56 (78,9)          | 15 (21,1)            |       |
| Nerūko                          | 7 (77,8)            | 2 (22,2)             |       | 9 (100,0)          | 0                    |       |
| Naviko lokalizacija             |                     |                      | 0,095 |                    |                      | 0,153 |
| Centrinis                       | 20 (80,0)           | 5 (20,0)             |       | 18 (72,0)          | 7 (28,0)             |       |
| Periferinis                     | 51 (92,7)           | 4 (7,3)              |       | 47 (85,5)          | 8 (14,5)             |       |
| Naviko histologinis tipas       |                     |                      | 0,071 |                    |                      | 0,287 |
| Adenokarcinoma                  | 30 (96,8)           | 1 (3,2)              |       | 27 (87,1)          | 4 (12,9)             |       |
| Plokščialąstelinė karcinoma     | 41 (83,7)           | 8 (16,3)             |       | 38 (77,6)          | 11 (22,4)            |       |
| Naviko diferenciacijos laipsnis |                     |                      | 0,174 |                    |                      | 0,188 |
| G1                              | 6 (100,0)           | 0                    |       | 6 (100,0)          | 0                    |       |
| G2                              | 19 (79,2)           | 5 (20,8)             |       | 17 (70,8)          | 7 (29,2)             |       |
| G3                              | 46 (92,0)           | 4 (8,0)              |       | 42 (84,0)          | 8 (16,0)             |       |
| Ligos stadija                   |                     |                      | 0,879 |                    |                      | 0,957 |
| IB                              | 27 (90,0)           | 3 (10,0)             |       | 24 (80,0)          | 6 (20,0)             |       |
| IIA                             | 21 (87,5)           | 3 (12,5)             |       | 19 (79,2)          | 5 (20,8)             |       |
| IIB                             | 10 (83,3)           | 2 (16,7)             |       | 10 (83,3)          | 2 (16,7)             |       |
| IIIA                            | 13 (92,9)           | 1 (7,1)              |       | 12 (85,7)          | 2 (14,3)             |       |
| Naviko dydis                    |                     |                      | 0,800 |                    |                      | 0,241 |
| T1A                             | 2 (100,0)           | 0                    |       | 2 (100,0)          | 0                    |       |
| T1B                             | 6 (100,0)           | 0                    |       | 5 (83,3)           | 1 (16,7)             |       |
| T2A                             | 40 (88,9)           | 5 (11,1)             |       | 39 (86,7)          | 6 (13,3)             |       |
| T2B                             | 10 (90,9)           | 1 (9,1)              |       | 6 (54,5)           | 5 (45,5)             |       |
| T3                              | 12 (80,0)           | 3 (20,0)             |       | 12 (80,0)          | 3 (20,0)             |       |
| T4                              | 1 (100,0)           | 0                    |       | 1 (100,0)          | 0                    |       |
| Limfinių mazgų būklė            |                     |                      | 0,813 |                    |                      | 0,047 |
| N0                              | 40 (87,0)           | 6 (13,0)             |       | 37 (80,4)          | 9 (19,6)             |       |
| N1                              | 23 (92,0)           | 2 (8,0)              |       | 21 (84,0)          | 4 (16,0)             |       |
| N2                              | 8 (88,9)            | 1 (11,1)             |       | 7 (77,8)           | 2 (22,2)             |       |
| Ligos eiga                      |                     |                      | 0,860 |                    |                      | 0,474 |
| Stabili liga                    | 57 (89,1)           | 7 (10,9)             |       | 53 (82,8)          | 11 (17,2)            |       |
| Ligos progresavimas             | 14 (87,5)           | 2 (12,5)             |       | 12 (75,0)          | 4 (25,0)             |       |

G1 – gerai diferencijuotas navikas; G2 – vidutiniškai diferencijuotas navikas; G3 – blogai diferencijuotas navikas; N0 – sritiniuose limfiniuose mazguose metastazių nėra; N1 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio šaknies limfiniuose mazguose; N2 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio tarpuplaučio limfiniuose mazguose.

Pastebėta, kad statistiškai reikšmingai dažniau maža RMMI raiška navike nustatyta nesant metastazių sritiniuose limfiniuose mazguose (p=0,047).

Panaudojus koreliacinės analizės metodą įvertintas tiriamųjų parametrų ryšių stiprumas (12 lentelė).

Lentelė Nr. 12. *ERCC1 ir RRM1 genų raiškos navike ir sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų koreliacinė analizė.*

| Parametras                      | <i>ERCC1</i> raiška navike |       | <i>RRM1</i> raiška navike |       |
|---------------------------------|----------------------------|-------|---------------------------|-------|
|                                 | r                          | p     | r                         | p     |
| Lytis                           | 0,101                      | 0,185 | 0,137                     | 0,113 |
| Amžius                          | -0,048                     | 0,335 | -0,044                    | 0,349 |
| Rūkymas                         | 0,124                      | 0,137 | -0,171                    | 0,065 |
| Naviko lokalizacija             | 0,187                      | 0,049 | 0,160                     | 0,078 |
| Naviko histologinis tipas       | -0,202                     | 0,036 | -0,119                    | 0,146 |
| Naviko diferenciacijos laipsnis | 0,100                      | 0,188 | 0,055                     | 0,313 |
| Ligos stadija                   | 0,007                      | 0,475 | 0,049                     | 0,332 |
| Naviko dydis                    | -0,124                     | 0,136 | -0,146                    | 0,098 |
| Limfinių mazgų būklė            | 0,057                      | 0,307 | 0,013                     | 0,456 |
| Ligos eiga                      | -0,020                     | 0,431 | -0,080                    | 0,240 |

r – koreliacijos koeficientas

Iš pateiktų duomenų matyti, kad nustatytas labai silpnas, bet statistiškai reikšmingas ryšys tarp *ERCC1* raiškos navike ir naviko lokalizacijos. Tikimybė nustatyti mažą *ERCC1* raišką navike yra didesnė diagnozavus periferinį naviką ( $r=0,187$ ,  $p=0,049$ ). Taip pat nustatytas silpnas atvirkštinis ryšys tarp *ERCC1* raiškos navike ir naviko histologinio tipo ( $r=-0,202$ ,  $p=0,036$ ). Tikimybė nustatyti didelę *ERCC1* raišką navike mažėja esant adenokarcinomai.

Tyrime dalyvaujančių pacientų, sergančių nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu, ligos progresavimo tikimybė buvo įvertinta priklausomai nuo nustatytos *ERCC1* ir *RRM1* raiškos navike (13 lentelė).

Lentelė Nr. 13. Sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu pacientų ligos progresavimo tikimybės analizė pagal ERCC1 ir RRM1 genų raišką navike.

| Parametras                      | ERCC1 raiška navike | RRM1 raiška navike |
|---------------------------------|---------------------|--------------------|
|                                 | p (log-rank)        |                    |
| Lytis                           |                     |                    |
| Vyras                           | 0,665               | 0,552              |
| Moteris                         | –                   | –                  |
| Amžius                          |                     |                    |
| ≤ 63 metų                       | 0,717               | 0,385              |
| >63 metų                        | 0,635               | 0,102              |
| Rūkymas                         |                     |                    |
| Rūko                            | 0,816               | 0,776              |
| Nerūko                          | 0,580               | –                  |
| Naviko lokalizacija             |                     |                    |
| Centrinis                       | 0,644               | 0,416              |
| Periferinis                     | 0,491               | 0,624              |
| Naviko histologinis tipas       |                     |                    |
| Adenokarcinoma                  | 0,821               | 0,743              |
| Plokščialąstelinė karcinoma     | 0,886               | 0,589              |
| Naviko diferenciacijos laipsnis |                     |                    |
| G1                              | –                   | –                  |
| G2                              | 0,137               | 0,472              |
| G3                              | 0,807               | 0,838              |
| Ligos stadija                   |                     |                    |
| IB                              | 0,194               | 0,719              |
| IIA                             | 0,185               | 0,588              |
| IIB                             | 0,188               | 0,727              |
| IIIA                            | 0,689               | 0,203              |
| Naviko dydis                    |                     |                    |
| T1A                             | –                   | –                  |
| T1B                             | –                   | 0,025              |
| T2A                             | 0,437               | 0,570              |
| T2B                             | 0,136               | 0,464              |
| T3                              | 0,313               | 0,549              |
| T4                              | –                   | –                  |
| Limfinių mazgų būklė            |                     |                    |
| N0                              | 0,248               | 0,902              |
| N1                              | 0,473               | 0,995              |
| N2                              | –                   | 0,372              |

Atlikta ligos progresavimo analizė Kaplano-Majerio metodu parodė, kad tik *RRM1* raiška navike susijusi su ligos progresavimu priklausomai nuo naviko dydžio (13 lentelė). Pacientams, kuriems buvo nustatytas T1B dydžio navikas ir maža *RRM1* raiška navike, laikotarpis iki ligos progresavimo buvo ilgesnis, palyginti su tais pacientais, kuriems buvo nustatytas tokio paties dydžio navikas ir didelė *RRM1* raiška.

#### 4.2.2. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos tyrimas kraujyje

Sergančiųjų nesmulkiaūsteliu plaučių vėžiu kraujyje prieš pradėdant gydymą buvo tirta *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška, pagal kurios lygį pacientai buvo suskirstyti atitinkamai į grupes pagal lytį, amžių medianą, rūkymą, pagal naviko lokalizaciją, naviko histologinį tipą, pagal naviko diferenciacijos laipsnį, ligos stadiją, pagal naviko dydį, limfinių mazgų būklę, operacijos apimtį ir ligos eigą. Pacientų pasiskirstymas pateiktas 14 lentelėje. Maža *ERCC1* geno raiška kraujyje nustatyta 62 pacientams, didelė *ERCC1* geno raiška kraujyje nustatyta 18 pacientų ( $p < 0,001$ ). Atitinkamai maža *RRM1* geno raiška kraujyje nustatyta 68 pacientams, didelė *RRM1* geno raiška kraujyje nustatyta 12 pacientų ( $p < 0,001$ ).

Lentelė Nr. 14. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos kraujyje sąsaja su pacientų lytimi, amžiumi ir klinikinėmis pataloginėmis charakteristikomis.

| Parametras   | ERCC1 raiška kraujyje  |   |       | RRM1 raiška kraujyje   |   |       |
|--|--|---|-------|--|---|-------|
|  | Maža raiška, n (%)   | Didelė raiška, n (%)                                    | p     | Maža raiška, n (%)   | Didelė raiška, n (%)                            | p     |
| Lytis<br>Vyras<br>Moteris  | 58 (78,4)<br>4 (66,7)  | 16 (21,6)<br>2 (33,3)                                   | 0,509 | 63 (85,1)<br>5 (83,3)  | 11 (14,9)<br>1 (16,7)                           | 0,905 |
| Amžius<br>≤ 63 metų<br>>63 metų  | 30 (73,2)<br>32 (82,1)   | 11 (26,8)<br>7 (17,9)                                   | 0,342 | 36 (87,8)<br>32 (82,1)   | 5 (12,2)<br>7 (17,9)                            | 0,471 |
| Rūkymas<br>Rūko<br>Nerūko  | 53 (74,7)<br>9 (100,0)   | 18 (25,3)<br>0  | 0,860 | 60 (84,5)<br>8 (88,9)  | 11 (15,5)<br>1 (11,1)                           | 0,729 |
| Naviko lokalizacija<br>Centrinis<br>Periferinis                            | 19 (76,0)<br>43 (78,2)   | 6 (24,0)<br>12 (21,8)                                   | 0,829 | 21 (84,0)<br>47 (85,4)   | 4 (16,0)<br>8 (14,5)                            | 0,866 |
| Naviko histologinis tipas<br>Adenokarcinoma<br>Plokščialąstelinė karcinoma | 24 (77,4)<br>38 (77,5)   | 7 (22,6)<br>11 (22,5)                                   | 0,989 | 27 (87,1)<br>41 (83,7)   | 4 (12,9)<br>8 (16,3)                            | 0,676 |
| Naviko diferenciacijos laipsnis<br>G1<br>G2<br>G3                          | 4 (66,7)<br>16 (66,7)<br>42 (84,0)                                       | 2 (33,3)<br>8 (33,3)<br>8 (16,0)                        | 0,199 | 5 (83,3)<br>20 (83,3)<br>43 (86,0)   | 1 (16,7)<br>4 (16,7)<br>7 (14,0)                | 0,949 |
| Ligos stadija<br>IB<br>IIA<br>IIB<br>IIIA                                  | 26 (86,7)<br>16 (66,7)<br>8 (66,7)<br>12 (85,7)                          | 4 (13,3)<br>8 (33,3)<br>4 (33,3)<br>2 (14,3)            | 0,220 | 25 (83,3)<br>19 (79,2)<br>11 (91,7)<br>13 (92,9)                           | 5 (16,7)<br>5 (20,8)<br>1 (8,3)<br>1 (7,1)      | 0,614 |
| Naviko dydis<br>T1A<br>T1B<br>T2A<br>T2B<br>T3<br>T4                       | 2 (100,0)<br>5 (83,3)<br>34 (75,6)<br>9 (81,8)<br>11 (73,3)<br>1 (100,0) | 0<br>1 (16,7)<br>11 (24,4)<br>2 (18,8)<br>4 (26,7)<br>0 | 0,929 | 2 (100,0)<br>4 (66,7)<br>37 (82,2)<br>11 (100,0)<br>13 (86,7)<br>1 (100,0) | 0<br>2 (33,3)<br>8 (17,8)<br>0<br>2 (13,3)<br>0 | 0,499 |
| Limfinių mazgų būklė<br>N0<br>N1<br>N2                                     | 37 (80,4)<br>18 (72,0)<br>7 (77,8)                                       | 9 (19,6)<br>7 (28,0)<br>2 (22,2)                        | 0,718 | 39 (84,8)<br>21 (84,0)<br>8 (88,9)   | 7 (15,2)<br>4 (16,0)<br>1 (11,1)                | 0,938 |
| Ligos eiga<br>Stabili liga<br>Ligos progresavimas                          | 53 (82,8)<br>9 (56,3)  | 11 (17,2)<br>7 (43,8)                                   | 0,023 | 56 (87,5)<br>12 (75,0)   | 8 (12,5)<br>4 (25,0)                            | 0,210 |

G1 – gerai diferencijuotas navikas; G2 – vidutiniškai diferencijuotas navikas; G3 – blogai diferencijuotas navikas; N0 – sritiniuose limfiniuose mazguose metastazių nėra; N1 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio šaknies limfiniuose mazguose; N2 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio tarpuplaučio limfiniuose mazguose.

Iš lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad yra statistiškai reikšmingas ryšys tarp ligos eigos ir *ERCC1* geno raiškos kraujyje ( $p=0,023$ ), tai yra dažniau nustatyta maža geno raiška palyginus su didele esant stabiliai ligos eigai.

Atlikta koreliacinė analizė pavaizduota 15 lentelėje. Nustatytas koreliacinio ryšio stiprumas tarp *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos kraujyje ir sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų.

Lentelė Nr. 15. *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos kraujyje ir sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų koreliacinė analizė pradedant gydymą.

| Parametras                      | <i>ERCC1</i> geno raiška kraujyje prieš gydymą |       | <i>RRM1</i> geno raiška kraujyje prieš gydymą |       |
|---------------------------------|--|-------|---|-------|
|                                 | r  | p     | r   | p     |
| Lytis                           | -0,074   | 0,257 | 0,013   | 0,453 |
| Amžius                          | 0,106  | 0,174 | 0,081   | 0,239 |
| Rūkymas                         | -0,192   | 0,044 | 0,039   | 0,366 |
| Naviko lokalizacija             | 0,024  | 0,416 | -0,019  | 0,434 |
| Naviko histologinis tipas       | 0,002  | 0,495 | 0,047   | 0,340 |
| Naviko diferenciacijos laipsnis | 0,197  | 0,040 | -0,036  | 0,377 |
| Ligos stadija                   | -0,084   | 0,229 | -0,098  | 0,193 |
| Naviko dydis                    | -0,034   | 0,383 | -0,140  | 0,108 |
| Limfinių mazgų būklė            | -0,070   | 0,269 | -0,016  | 0,443 |
| Ligos eiga                      | -0,254   | 0,011 | 0,140   | 0,108 |

r – koreliacijos koeficientas

Atlikus koreliacinę analizę nustatytas atvirkštinis labai silpnas ryšys ( $r=-0,192$ ,  $p=0,044$ ) tarp rūkymo ir *ERCC1* geno raiškos kraujyje (rūkantiems *ERCC1* raiška dažniau bus didelė), labai silpnas ryšys ( $r=0,197$ ,  $p=0,04$ ) tarp naviko diferenciacijos laipsnio ir *ERCC1* geno raiškos kraujyje (esant gerai diferencijuotai karcinomai *ERCC1* raiška dažniau bus maža), atvirkštinis silpnas ryšys ( $r=-0,254$ ,  $p=0,011$ ) tarp ligos eigos ir *ERCC1* geno raiškos kraujyje (esant stabiliai ligos eigai *ERCC1* raiška dažniau bus didelė).

Tyrimė dalyvaujančių pacientų, sergančių nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu, ligos progresavimo tikimybė buvo įvertinta priklausomai nuo nustatytos *ERCC1* ir *RRM1* raiškos kraujyje (16 lentelė).

Lentelė Nr. 16. Sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu ligos progresavimo tikimybės analizė pagal ERCC1 ir RRM1 genų raišką kraujyje pradedant gydymą.

| Parametras                      | ERCC1 raiška kraujyje prieš gydymą | RRM1 raiška kraujyje prieš gydymą |
|---------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
|                                 | p (log-rank)                       |                                   |
| Lytis                           |                                    |                                   |
| Vyras                           | 0,063                              | 0,149                             |
| Moteris                         | 0,157                              | 0,655                             |
| Amžius                          |                                    |                                   |
| ≤ 63 metų                       | 0,014                              | 0,789                             |
| >63 metų                        | 0,803                              | 0,110                             |
| Rūkymas                         |                                    |                                   |
| Rūko                            | 0,054                              | 0,231                             |
| Nerūko                          | –                                  | 0,510                             |
| Naviko lokalizacija             |                                    |                                   |
| Centrinis                       | 0,565                              | 0,998                             |
| Periferinis                     | 0,022                              | 0,120                             |
| Naviko histologinis tipas       |                                    |                                   |
| Adenokarcinoma                  | 0,123                              | 0,256                             |
| Plokščialąstelinė karcinoma     | 0,112                              | 0,354                             |
| Naviko diferenciacijos laipsnis |                                    |                                   |
| G1                              | 0,352                              | 0,502                             |
| G2                              | 0,224                              | 0,400                             |
| G3                              | 0,116                              | 0,343                             |
| Ligos stadija                   |                                    |                                   |
| IB                              | 0,119                              | 0,178                             |
| IIA                             | 0,146                              | 0,800                             |
| IIB                             | 0,583                              | 0,513                             |
| IIIA                            | 0,073                              | 0,230                             |
| Naviko dydis                    |                                    |                                   |
| T1A                             | –                                  | –                                 |
| T1B                             | 0,025                              | 0,157                             |
| T2A                             | 0,041                              | 0,276                             |
| T2B                             | 0,202                              | –                                 |
| T3                              | 0,562                              | 0,153                             |
| T4                              | –                                  | –                                 |
| Limfinių mazgų būklė            |                                    |                                   |
| N0                              | 0,168                              | 0,156                             |
| N1                              | 0,154                              | 0,995                             |
| N2                              | 0,164                              | 0,372                             |

Atlikta ligos progresavimo analizė Kaplano-Majerio metodu parodė, kad ERCC1 raiška kraujyje susijusi su jaunesniais nei 63 metų pacientais, kuomet laikas iki ligos progresavimo esant didelei ERCC1 raiškai yra trumpesnis. Taip pat sergantiesiems periferiniu naviku ir esant mažai ERCC1 raiškai laikas iki ligos progresavimo yra trumpesnis lyginant didele ERCC1 raiška sergantiesiems nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu. Lygiai taip pat nustatytos sąsajos tarp T1B ir T2A navikų su ERCC1 raiška kraujyje – esant



didelei raiškai tikėtinas greitesnis ligos progresavimas sergantiesiems T1B dydžio naviku bei esant mažai raiškai tikėtinas greitesnis ligos progresavimas sergantiesiems T2A dydžio naviku (16 lentelė).

#### **4.2.3. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos tyrimas bronchų sekrete**

Sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu bronchų sekrete prieš pradėdant gydymą buvo tirta *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška, pagal kurios lygį pacientai buvo suskirstyti atitinkamai į lyties, amžiaus medianos, rūkymo, naviko lokalizacijos, naviko histologinio tipo, naviko diferenciacijos laipsnio, ligos stadijos, naviko dydžio, limfinių mazgų būklės, operacijos apimtį ir ligos eigos grupes. Pacientų pasiskirstymas pagal pateiktas charakteristikas pateiktas 17 lentelėje. Maža *ERCC1* geno raiška bronchų sekrete nustatyta 74 pacientams, didelė *ERCC1* geno raiška bronchų sekrete nustatyta 6 pacientams ( $p < 0,001$ ). Atitinkamai maža *RRM1* geno raiška bronchų sekrete nustatyta 69 pacientams, didelė *RRM1* geno raiška bronchų sekrete nustatyta 11 pacientų ( $p < 0,001$ ).

Lentelė Nr. 17. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos bronchų sekrete analizė priklausomai nuo sergančiųjų nesmulkiaštelinių plaučių vėžių klinikinių charakteristikų pradedant gydymą.

| Parametras   | ERCC1 raiška bronchų sekrete   |  |       | RRM1 raiška bronchų sekrete  |   |       |
|--|--|--|-------|--|---|-------|
|  | Maža raiška, n (%)   | Didelė raiška, n (%)                         | p     | Maža raiška, n (%)   | Didelė raiška, n (%)                                  | p     |
| Lytis<br>Vyras<br>Moteris  | 68 (91,9)<br>6 (100,0)   | 6 (8,1)<br>0                                 | 0,468 | 64 (86,5)<br>5 (83,3)  | 10 (13,5)<br>1 (16,7)                                 | 0,829 |
| Amžius<br>≤ 63 metų<br>>63 metų  | 37 (90,2)<br>37 (94,9)   | 4 (9,8)<br>2 (5,1)                           | 0,432 | 36 (87,8)<br>33 (84,6)   | 5 (12,2)<br>6 (15,4)                                  | 0,679 |
| Rūkymas<br>Rūko<br>Nerūko  | 65 (91,6)<br>9 (100,0)   | 6 (8,4)<br>0                                 | 0,365 | 61 (85,9)<br>8 (88,9)  | 10 (14,1)<br>1 (11,1)                                 | 0,807 |
| Naviko lokalizacija<br>Centrinis<br>Periferinis                            | 23 (92,0)<br>51 (92,7)   | 2 (8,0)<br>4 (7,3)                           | 0,909 | 22 (88,0)<br>47 (85,4)   | 3 (12,0)<br>8 (14,5)                                  | 0,759 |
| Naviko histologinis tipas<br>Adenokarcinoma<br>Plokščialąstelinė karcinoma | 29 (93,5)<br>45 (91,8)   | 2 (6,4)<br>4 (8,2)                           | 0,777 | 25 (80,6)<br>44 (89,8)   | 6 (19,4)<br>5 (10,2)                                  | 0,247 |
| Naviko diferenciacijos laipsnis<br>G1<br>G2<br>G3                          | 6 (100,0)<br>23 (95,8)<br>45 (90,0)  | 0<br>1 (4,2)<br>5 (10,0)                     | 0,517 | 5 (83,3)<br>21 (87,5)<br>43 (86,0)                                       | 1 (16,7)<br>3 (12,5)<br>7 (14,0)                      | 0,962 |
| Ligos stadija<br>IB<br>IIA<br>IIB<br>IIIA                                  | 27 (90,0)<br>22 (91,7)<br>11 (91,7)<br>14 (100,0)                          | 3 (10,0)<br>2 (8,3)<br>1 (8,3)<br>0          | 0,696 | 24 (80,0)<br>21 (87,5)<br>12 (100,0)<br>12 (85,7)                        | 6 (20,0)<br>3 (12,5)<br>0<br>2 (14,3)                 | 0,402 |
| Naviko dydis<br>T1A<br>T1B<br>T2A<br>T2B<br>T3<br>T4                       | 2 (100,0)<br>6 (100,0)<br>41 (91,1)<br>10 (90,9)<br>14 (93,3)<br>1 (100,0) | 0<br>0<br>4 (8,9)<br>1 (9,1)<br>1 (6,7)<br>0 | 0,969 | 2 (100,0)<br>5 (83,3)<br>38 (84,4)<br>9 (81,8)<br>14 (93,3)<br>1 (100,0) | 0<br>1 (16,7)<br>7 (15,5)<br>2 (18,2)<br>1 (6,7)<br>0 | 0,917 |
| Limfinių mazgų būklė<br>N0<br>N1<br>N2                                     | 42 (91,3)<br>23 (92,0)<br>9 (100,0)  | 4 (8,7)<br>2 (8,0)<br>0                      | 0,659 | 40 (86,9)<br>22 (88,0)<br>7 (77,8)                                       | 6 (13,1)<br>3 (12,0)<br>2 (22,2)                      | 0,730 |
| Ligos eiga<br>Stabili liga<br>Ligos progresavimas                          | 59 (92,2)<br>15 (93,8)   | 5 (7,8)<br>1 (6,3)                           | 0,832 | 55 (85,9)<br>14 (87,5)   | 9 (14,1)<br>2 (12,5)                                  | 0,871 |

G1 – gerai diferencijuotas navikas; G2 – vidutiniškai diferencijuotas navikas; G3 – blogai diferencijuotas navikas; N0 – sritiniuose limfiniuose mazguose metastazių nėra; N1 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio šaknies limfiniuose mazguose; N2 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio tarpuplaučio limfiniuose mazguose.

Iš lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad nėra statistiškai reikšmingo pasiskirstymo tarp ERCC1 ir RRM1 genų raiškos bronchų sekrete ir pacientų klinikinių charakteristikų.

Taip pat atlikta koreliacinė analizė, kuri pavaizduota 18 lentelėje. Nustatytas koreliacinio ryšio stiprumas tarp *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos bronchų sekrete ir sergančiųjų nesmulkiažsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų.

*Lentelė Nr. 18. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos bronchų sekrete ir sergančiųjų nesmulkiažsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų koreliacinė analizė.*

| Parametras                      | <i>ERCC1</i> geno raiška bronchų sekrete |       | <i>RRM1</i> geno raiška bronchų sekrete |       |
|---------------------------------|--|-------|---|-------|
|                                 | r  | p     | r                                       | p     |
| Lytis                           | 0,081                                    | 0,237 | -0,024                                  | 0,416 |
| Amžius                          | 0,088                                    | 0,219 | -0,046                                  | 0,342 |
| Rūkymas                         | -0,101                                   | 0,185 | -0,027                                  | 0,405 |
| Naviko lokalizacija             | 0,013                                    | 0,455 | -0,034                                  | 0,381 |
| Naviko histologinis tipas       | -0,032                                   | 0,390 | 0,129                                   | 0,126 |
| Naviko diferenciacijos laipsnis | -0,128                                   | 0,130 | -0,004                                  | 0,487 |
| Ligos stadija                   | 0,110                                    | 0,166 | 0,128                                   | 0,128 |
| Naviko dydis                    | -0,027                                   | 0,405 | 0,058                                   | 0,306 |
| Limfinių mazgų būklė            | 0,072                                    | 0,262 | -0,044                                  | 0,350 |
| Ligos eiga                      | 0,024                                    | 0,417 | 0,018                                   | 0,437 |

r – koreliacijos koeficientas

Atlikus koreliacinę analizę nenustatytas statistiškai reikšmingas ryšys tarp *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos bronchų sekrete ir pacientų klinikinių charakteristikų.

Tyrime dalyvaujančių pacientų, sergančių nesmulkiažsteliu plaučių vėžiu, ligos progresavimo tikimybė buvo įvertinta priklausomai nuo nustatytos *ERCC1* ir *RRM1* raiškos bronchų sekrete (19 lentelė).

Lentelė Nr. 19. Sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu ligos progresavimo tikimybės analizė pagal ERCCI ir RRMI genų raišką bronchų sekrete.

| Parametras                      | ERCCI raiška bronchų sekrete | RRMI raiška bronchų sekrete |
|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
|                                 | p (log-rank)                 |                             |
| Lytis                           |                              |                             |
| Vyras                           | 0,381                        | 0,328                       |
| Moteris                         | –                            | 0,655                       |
| Amžius                          |                              |                             |
| ≤ 63 metų                       | 0,342                        | 0,356                       |
| >63 metų                        | 0,955                        | 0,813                       |
| Rūkymas                         |                              |                             |
| Rūko                            | 0,496                        | 0,474                       |
| Nerūko                          | –                            | 0,510                       |
| Naviko lokalizacija             |                              |                             |
| Centrinis                       | 0,400                        | 0,290                       |
| Periferinis                     | 0,577                        | 0,640                       |
| Naviko histologinis tipas       |                              |                             |
| Adenokarcinoma                  | 0,442                        | 0,444                       |
| Plokščialąstelinė karcinoma     | 0,531                        | 0,904                       |
| Naviko diferenciacijos laipsnis |                              |                             |
| G1                              | –                            | 0,820                       |
| G2                              | 0,945                        | 0,415                       |
| G3                              | 0,328                        | 0,628                       |
| Ligos stadija                   |                              |                             |
| IB                              | 0,433                        | 0,710                       |
| IIA                             | 0,733                        | 0,667                       |
| IIB                             | 0,573                        | –                           |
| IIIA                            | –                            | 0,876                       |
| Naviko dydis                    |                              |                             |
| T1A                             | –                            | –                           |
| T1B                             | –                            | 0,655                       |
| T2A                             | 0,469                        | 0,607                       |
| T2B                             | 0,853                        | 0,644                       |
| T3                              | 0,911                        | 0,197                       |
| T4                              | –                            | –                           |
| Limfinių mazgų būklė            |                              |                             |
| N0                              | 0,429                        | 0,500                       |
| N1                              | 0,473                        | 0,367                       |
| N2                              | –                            | 0,707                       |

Atlikta ligos progresavimo analizė Kaplano-Majerio metodu parodė, kad ERCCI ir RRMI raiška nesusijusi su pacientų klinikinėmis charakteristikomis.

#### 4.2.4. ERCC1 ir RRM1 genų raiškos tyrimas kraujyje po gydymo

Sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu kraujyje 4 mėnesiai po gydymo pradžios ir 12 mėnesių po gydymo pradžios buvo tirta *ERCC1* geno raiška kraujyje, pagal kurios lygį pacientai buvo suskirstyti atitinkamai į lyties, amžiaus medianos, rūkymo, naviko lokalizacijos, naviko histologinio tipo, naviko diferenciacijos laipsnio, ligos stadijos, naviko dydžio, limfinių mazgų būklės, operacijos apimties ir ligos eigos grupes. Pacientų pasiskirstymas pagal pateiktas charakteristikas pateiktas 20 lentelėje. Maža *ERCC1* geno raiška kraujyje 4 mėnesiai po gydymo pradžios nustatyta 74 pacientams, didelė *ERCC1* geno raiška nustatyta 5 pacientams ( $p < 0,001$ ). Per 4 mėnesius nuo gydymo pradžios 1 pacientas mirė. Atitinkamai maža *ERCC1* geno raiška kraujyje 12 mėnesių po gydymo pradžios nustatyta 62 pacientams, didelė *ERCC1* geno raiška nustatyta 11 pacientų ( $p < 0,001$ ). Per 12 mėnesių nuo gydymo pradžios 7 pacientai mirė.

Lentelė Nr. 20. ERCC1 geno raiškos kraujyje 4 mėnesiai ir 12 mėnesių nuo gydymo pradžios analizė priklausomai nuo sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų.

| Parametras   | ERCC1 raiška kraujyje po 4 mėn.   |   |       | ERCC1 raiška kraujyje po 12 mėn.                                       |  |       |
|--|---|---|-------|--|--|-------|
|  | Maža raiška, n (%)  | Didelė raiška, n (%)                      | p     | Maža raiška, n (%)   | Didelė raiška, n (%)   | p     |
| Lytis<br>Vyras<br>Moteris  | 69 (94,5)<br>5 (83,3)   | 4 (5,5)<br>1 (16,7)                       | 0,241 | 57 (85,1)<br>5 (83,3)  | 10 (14,9)<br>1 (16,7)  | 0,909 |
| Amžius<br>≤ 63 metų<br>>63 metų  | 38 (95,0)<br>36 (92,3)  | 2 (5,0)<br>3 (7,7)                        | 0,623 | 35 (89,7)<br>27 (79,4)   | 4 (10,3)<br>7 (20,6)   | 0,218 |
| Rūkymas<br>Rūko<br>Nerūko  | 65 (92,9)<br>9 (100,0)  | 5 (7,1)<br>0                              | 0,407 | 54 (83,1)<br>8 (100,0)   | 11 (16,9)<br>0   | 0,207 |
| Naviko lokalizacija<br>Centrinis<br>Periferinis                            | 24 (96,0)<br>50 (92,6)  | 1 (4,0)<br>4 (7,4)                        | 0,563 | 21 (84,0)<br>41 (85,4)   | 4 (16,0)<br>7 (14,6)   | 0,872 |
| Naviko histologinis tipas<br>Adenokarcinoma<br>Plokščialąstelinė karcinoma | 30 (96,8)<br>44 (91,7)  | 1 (3,2)<br>4 (8,3)                        | 0,363 | 25 (92,6)<br>37 (80,4)   | 2 (7,4)<br>9 (19,6)  | 0,161 |
| Naviko diferenciacijos laipsnis<br>G1<br>G2<br>G3                          | 5 (100,0)<br>20 (83,3)<br>49 (98,0)   | 0<br>4 (16,7)<br>1 (2,0)                  | 0,044 | 4 (100,0)<br>19 (82,6)<br>39 (84,8)                                    | 0<br>4 (17,4)<br>7 (15,2)                                      | 0,668 |
| Ligos stadija<br>IB<br>IIA<br>IIB<br>IIIA                                  | 29 (96,7)<br>22 (95,6)<br>11 (91,7)<br>12 (85,7)                            | 1 (3,3)<br>1 (4,4)<br>1 (8,3)<br>2 (14,3) | 0,535 | 29 (96,7)<br>19 (86,4)<br>6 (66,7)<br>8 (66,7)                         | 1 (3,3)<br>3 (13,6)<br>3 (33,3)<br>4 (33,3)                    | 0,033 |
| Naviko dydis<br>T1A<br>T1B<br>T2A<br>T2B<br>T3<br>T4                       | 2 (100,0)<br>6 (100,0)<br>42 (93,3)<br>10 (100,0)<br>13 (86,7)<br>1 (100,0) | 0<br>0<br>3 (6,7)<br>0<br>2 (13,3)<br>0   | 0,771 | 1 (50,0)<br>5 (100,0)<br>39 (88,6)<br>6 (85,7)<br>11 (78,6)<br>0 (0,0) | 1 (50,0)<br>0<br>5 (11,4)<br>1 (14,3)<br>3 (21,4)<br>1 (100,0) | 0,096 |
| Limfinių mazgų būklė<br>N0<br>N1<br>N2                                     | 43 (95,6)<br>24 (96,0)<br>7 (77,8)  | 2 (4,4)<br>1 (4,0)<br>2 (22,2)            | 0,115 | 38 (90,5)<br>19 (82,6)<br>5 (62,5)                                     | 4 (9,5)<br>4 (17,4)<br>3 (37,5)                                | 0,119 |
| Ligos eiga<br>Stabili liga<br>Ligos progresavimas                          | 63 (98,4)<br>11 (73,3)  | 1 (1,6)<br>4 (26,7)                       | 0,001 | 53 (89,8)<br>9 (64,3)  | 6 (10,2)<br>5 (35,7)   | 0,016 |

G1 – gerai diferencijuotas navikas; G2 – vidutiniškai diferencijuotas navikas; G3 – blogai diferencijuotas navikas; N0 – sritiniuose limfiniuose mazguose metastazių nėra; N1 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio šaknies limfiniuose mazguose; N2 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio tarpuplaučio limfiniuose mazguose.

Iš lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad yra statistiškai reikšmingas pasiskirstymas tarp ligos stadijos ir *ERCC1* geno raiškos kraujyje po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios ( $p=0,033$ ), tai yra dažniau nustatyta maža geno raiška palyginus su didele esant mažesnei ligos stadijai. Taip pat stebimas statistiškai reikšmingas pasiskirstymas tarp ligos eigos bei *ERCC1* geno raiškos kraujyje po 4 mėnesių nuo gydymo pradžios ( $p=0,001$ ) ir *ERCC1* geno raiškos kraujyje po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios ( $p=0,016$ ), tai yra dažniau nustatyta maža geno raiška palyginus su didele esant stabiliai ligos eigai.

Atlikta koreliacinė analizė pavaizduota 21 lentelėje. Nustatytas koreliacinio ryšio stiprumas tarp *ERCC1* geno raiškos kraujyje po 4 mėnesių ir po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios ir sergančiųjų nesmulkiaūsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų.

*Lentelė Nr. 21. ERCC1 geno raiškos kraujyje po 4 mėnesių ir po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios ir sergančiųjų nesmulkiaūsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų koreliacinė analizė.*

| Parametras                      | <i>ERCC1</i> raiška 4 mėnesiai po gydymo |       | <i>ERCC1</i> raiška 12 mėnesių po gydymo |       |
|---------------------------------|--|-------|--|-------|
|                                 | r  | p     | r  | p     |
| Lytis                           | -0,122                                   | 0,143 | -0,013                                   | 0,455 |
| Amžius                          | -0,055                                   | 0,314 | -0,144                                   | 0,112 |
| Rūkymas                         | -0,093                                   | 0,207 | -0,148                                   | 0,106 |
| Naviko lokalizacija             | -0,065                                   | 0,284 | 0,019                                    | 0,437 |
| Naviko histologinis tipas       | -0,102                                   | 0,185 | -0,164                                   | 0,083 |
| Naviko diferenciacijos laipsnis | 0,203                                    | 0,036 | -0,023                                   | 0,425 |
| Ligos stadija                   | -0,148                                   | 0,096 | -0,334                                   | 0,002 |
| Naviko dydis                    | -0,089                                   | 0,218 | -0,137                                   | 0,123 |
| Limfinių mazgų būklė            | -0,139                                   | 0,111 | -0,213                                   | 0,035 |
| Ligos eiga                      | -0,404                                   | 0,001 | -0,281                                   | 0,008 |

r – koreliacijos koeficientas

Atlikus koreliacinę analizę nustatytas silpnas ryšys ( $r=0,203$ ,  $p=0,036$ ) tarp naviko diferenciacijos laipsnio ir *ERCC1* geno raiškos kraujyje po 4 mėnesių nuo gydymo pradžios (esant mažesniai naviko diferenciacijos laipsniui *ERCC1* raiška dažniau bus maža), atvirkštinis silpnas ryšys ( $r=-0,334$ ,  $p=0,002$ ) tarp ligos stadijos ir *ERCC1* geno raiškos kraujyje po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios (esant mažai stadijai *ERCC1* raiška dažniau bus didelė), atvirkštinis silpnas ryšys ( $r=-0,213$ ,  $p=0,035$ ) tarp limfinių mazgų būklės ir *ERCC1* geno raiškos kraujyje po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios (nesant limfinių

mazgų pažeidimo *ERCC1* raiška dažniau bus didelė). Taip pat nustatytas atvirkštinis silpnas ryšys tarp ligos eigos ir *ERCC1* geno raiškos kraujyje po 4 ( $r=-0,404$ ,  $p=0,001$ ) ir 12 ( $r=-0,281$ ,  $p=0,008$ ) mėnesių nuo gydymo pradžios (esant stabiliai ligos eigai *ERCC1* raiška dažniau bus didelė).

Tyrime dalyvaujančių pacientų, sergančių nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu, ligos progresavimo tikimybė buvo įvertinta priklausomai nuo nustatytos *ERCC1* raiškos kraujyje 4 ir 12 mėnesių po gydymo (22 lentelė).



*Lentelė Nr. 22. Sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu ligos progresavimo tikimybės analizė pagal ERCC1 geno raišką kraujyje po 4 mėnesių ir po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios.*

| Parametras                      | ERCC1 raiška 4 mėnesiai po gydymo | ERCC1 raiška 12 mėnesių po gydymo |
|---------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                                 | p (log-rank)                      |                                   |
| Lytis                           |                                   |                                   |
| Vyras                           | 0,147                             | 0,460                             |
| Moteris                         | 0,025                             | 0,025                             |
| Amžius                          |                                   |                                   |
| ≤ 63 metų                       | 0,031                             | 0,220                             |
| >63 metų                        | 0,625                             | 0,747                             |
| Rūkymas                         |                                   |                                   |
| Rūko                            | 0,052                             | 0,317                             |
| Nerūko                          | –                                 | –                                 |
| Naviko lokalizacija             |                                   |                                   |
| Centrinis                       | 0,562                             | 0,782                             |
| Periferinis                     | 0,094                             | 0,208                             |
| Naviko histologinis tipas       |                                   |                                   |
| Adenokarcinoma                  | 0,196                             | 0,554                             |
| Plokščialąstelinė karcinoma     | 0,077                             | 0,127                             |
| Naviko diferenciacijos laipsnis |                                   |                                   |
| G1                              | –                                 | –                                 |
| G2                              | 0,218                             | 0,223                             |
| G3                              | 0,111                             | 0,661                             |
| Ligos stadija                   |                                   |                                   |
| IB                              | 0,104                             | 0,104                             |
| IIA                             | 0,065                             | 0,337                             |
| IIB                             | 0,696                             | 0,412                             |
| IIIA                            | 0,203                             | 0,179                             |
| Naviko dydis                    |                                   |                                   |
| T1A                             | –                                 | 0,317                             |
| T1B                             | –                                 | –                                 |
| T2A                             | 0,006                             | 0,004                             |
| T2B                             | –                                 | 0,432                             |
| T3                              | 0,929                             | 0,210                             |
| T4                              | –                                 | –                                 |
| Limfinių mazgų būklė            |                                   |                                   |
| N0                              | 0,710                             | 0,507                             |
| N1                              | 0,041                             | 0,278                             |
| N2                              | 0,372                             | 0,212                             |

Atlikta ligos progresavimo analizė Kaplano-Majerio metodu parodė, kad *ERCCI* raiška kraujyje moterims po 4 mėnesių ir 12 mėnesių nuo gydymo pradžios laikas iki ligos progresavimo esant mažai *ERCCI* raiškai yra trumpesnis. Lygiai tas pats stebima su jaunesniais nei 63 metų pacientais, kada laikas iki ligos progresavimo ir esant mažai *ERCCI* raiškai yra trumpesnis. Sergantiesiems T2A naviku ir esant mažai *ERCCI* raiškai po 4 mėnesių ir 12 mėnesių laikas iki ligos progresavimo yra trumpesnis lyginant su didelę *ERCCI* raišką turinčiais sergančiais nesmulkialąsteliu plaučių vėžiu. Taip pat ir esant N1 patologijai po 4 mėnesių nuo gydymo pradžios nustatytas mažą *ERCCI* raišką nustatomas trumpesnis laikas iki ligos progresavimo.

Sergančiųjų nesmulkialąsteliu plaučių vėžiu kraujyje 4 mėnesiai po gydymo pradžios ir 12 mėnesių po gydymo pradžios buvo tirta *RRM1* geno raiška kraujyje, pagal kurios lygį pacientai buvo suskirstyti atitinkamai į lyties, amžiaus medianos, rūkymo, naviko lokalizacijos, naviko histologinio tipo, naviko diferenciacijos laipsnio, ligos stadijos, naviko dydžio, limfinių mazgų būklės, operacijos apimtį ir ligos eigos grupes. Pacientų pasiskirstymas pagal pateiktas charakteristikas pateiktas 23 lentelėje. Maža *RRM1* geno raiška kraujyje 4 mėnesiai po gydymo pradžios nustatyta 65 pacientams, didelė *RRM1* geno raiška nustatyta 14 pacientų ( $p < 0,001$ ). Per 4 mėnesius nuo gydymo pradžios 1 pacientas mirė. Atitinkamai maža *RRM1* geno raiška kraujyje 12 mėnesių po gydymo pradžios nustatyta 56 pacientams, didelė *RRM1* geno raiška nustatyta 17 pacientų ( $p < 0,001$ ). Per 12 mėnesių nuo gydymo pradžios 7 pacientai mirė.

*Lentelė Nr. 23. RRM1 geno raiškos kraujyje 4 mėnesiai ir 12 mėnesių nuo gydymo pradžios analizė priklausomai nuo sergančiųjų nesmulkiašteliniu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų.*

| Parametras   | RRM1 raiška kraujyje po 4 mėn.   |  |       | RRM1 raiška kraujyje po 12 mėn.   |  |       |
|--|--|--|-------|---|--|-------|
|  | Maža raiška, n (%)   | Didelė raiška, n (%)                                   | P     | Maža raiška, n (%)  | Didelė raiška, n (%)                             | P     |
| Lytis<br>Vyras<br>Moteris  | 61 (83,6)<br>4 (66,7)  | 12 (16,4)<br>2 (33,3)                                  | 0,298 | 52 (77,6)<br>4 (66,7)   | 15 (22,4)<br>2 (33,3)                            | 0,543 |
| Amžius<br>≤ 63 metų<br>>63 metų  | 36 (90,0)<br>29 (74,4)   | 4 (10,0)<br>10 (25,6)                                  | 0,069 | 33 (84,6)<br>23 (67,6)  | 6 (15,4)<br>11 (32,4)                            | 0,87  |
| Rūkymas<br>Rūko<br>Nerūko  | 57 (81,4)<br>8 (88,9)  | 13 (18,6)<br>1 (11,1)                                  | 0,581 | 49 (75,4)<br>7 (87,5)   | 16 (24,6)<br>1 (12,5)                            | 0,444 |
| Naviko lokalizacija<br>Centrinis<br>Periferinis                            | 21 (84,0)<br>44 (81,5)   | 4 (16,0)<br>10 (18,5)                                  | 0,785 | 20 (80,0)<br>36 (75,0)  | 5 (20,0)<br>12 (25,0)                            | 0,631 |
| Naviko histologinis tipas<br>Adenokarcinoma<br>Plokščialąstelinė karcinoma | 27 (87,1)<br>38 (79,2)   | 4 (12,9)<br>10 (20,8)                                  | 0,367 | 21 (77,8)<br>35 (76,1)  | 6 (22,2)<br>11 (23,9)                            | 0,869 |
| Naviko diferenciacijos laipsnis<br>G1<br>G2<br>G3                          | 5 (100,0)<br>18 (75,0)<br>42 (84,0)                                      | 0<br>6 (25,0)<br>8 (16,0)                              | 0,359 | 4 (100,0)<br>17 (73,9)<br>35 (76,1)                                       | 0<br>6 (26,1)<br>11 (23,9)                       | 0,515 |
| Ligos stadija<br>IB<br>IIA<br>IIB<br>IIIA                                  | 27 (90,0)<br>17 (73,9)<br>10 (83,3)<br>11 (78,6)                         | 3 (10,0)<br>6 (26,1)<br>2 (16,7)<br>3 (21,4)           | 0,480 | 24 (80,0)<br>17 (77,3)<br>7 (77,8)<br>8 (66,7)                            | 6 (20,0)<br>5 (22,7)<br>2 (22,2)<br>4 (33,3)     | 0,833 |
| Naviko dydis<br>T1A<br>T1B<br>T2A<br>T2B<br>T3<br>T4                       | 2 (100,0)<br>5 (83,3)<br>37 (82,2)<br>9 (90,0)<br>11 (73,3)<br>1 (100,0) | 0<br>1 (16,7)<br>8 (17,8)<br>1 (10,0)<br>4 (26,7)<br>0 | 0,865 | 2 (100,0)<br>4 (80,0)<br>32 (72,7)<br>7 (100,0)<br>10 (71,4)<br>1 (100,0) | 0<br>1 (20,0)<br>12 (27,3)<br>0<br>4 (28,6)<br>0 | 0,597 |
| Limfinių mazgų būklė<br>N0<br>N1<br>N2                                     | 38 (84,4)<br>21 (84,0)<br>6 (66,7)                                       | 7 (15,6)<br>4 (16,0)<br>3 (33,3)                       | 0,427 | 33 (78,6)<br>19 (82,6)<br>4 (50,0)  | 9 (21,4)<br>4 (17,4)<br>4 (50,0)                 | 0,155 |
| Ligos eiga<br>Stabili liga<br>Ligos progresavimas                          | 57 (89,1)<br>8 (53,3)  | 7 (10,9)<br>7 (46,7)                                   | 0,001 | 51 (86,4)<br>5 (35,7)   | 8 (13,6)<br>9 (64,3)                             | 0,001 |

G1 – gerai diferencijuotas navikas; G2 – vidutiniškai diferencijuotas navikas; G3 – blogai diferencijuotas navikas; N0 – sritiniuose limfiniuose mazguose metastazių nėra; N1 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio šaknies limfiniuose mazguose; N2 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio tarpuplaučio limfiniuose mazguose.

Iš lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad yra statistiškai reikšmingas pasiskirstymas tarp ligos eigos bei *RRM1* geno raiškos kraujyje po 4 mėnesių nuo gydymo pradžios ( $p=0,001$ ) ir *RRM1* geno raiškos kraujyje po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios ( $p=0,001$ ), tai yra dažniau nustatyta maža geno raiška palyginus su didele esant stabiliai ligos eigai.

Atlikta koreliacinė analizė pavaizduota 24 lentelėje. Nustatytas koreliacinio ryšio stiprumas tarp *RRM1* geno raiškos kraujyje po 4 mėnesių ir po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios ir sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų.

Lentelė Nr. 24. *RRM1* geno raiškos kraujyje po 4 mėnesių ir po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios ir sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų koreliacinė analizė.

| Parametras                      | <i>RRM1</i> geno raiška 4 mėnesiai po gydymo |       | <i>RRM1</i> geno raiška 12 mėnesių po gydymo |       |
|---------------------------------|--|-------|--|-------|
|                                 | r  | p     | r  | p     |
| Lytis                           | -0,117                                       | 0,152 | 0,071  | 0,275 |
| Amžius                          | -0,205                                       | 0,035 | 0,200  | 0,045 |
| Rūkymas                         | -0,062                                       | 0,293 | 0,090  | 0,226 |
| Naviko lokalizacija             | -0,031                                       | 0,394 | 0,056  | 0,319 |
| Naviko histologinis tipas       | -0,101                                       | 0,187 | 0,019  | 0,436 |
| Naviko diferenciacijos laipsnis | 0,033  | 0,388 | 0,041  | 0,366 |
| Ligos stadija                   | -0,114                                       | 0,158 | 0,090  | 0,224 |
| Naviko dydis                    | -0,058                                       | 0,305 | -0,014                                       | 0,453 |
| Limfinių mazgų būklė            | -0,095                                       | 0,202 | 0,102  | 0,195 |
| Ligos eiga                      | -0,367                                       | 0,001 | 0,473  | 0,001 |

r – koreliacijos koeficientas

Atlikus koreliacinę analizę nustatytas atvirkštinis silpnas ryšys ( $r=-0,205$ ,  $p=0,035$ ) tarp amžiaus ir *RRM1* geno raiškos kraujyje po 4 mėnesių nuo gydymo pradžios (esant mažesniai amžiui *RRM1* raiška dažniau bus didelė), silpnas ryšys ( $r=0,200$ ,  $p=0,045$ ) tarp amžiaus ir *RRM1* geno raiškos kraujyje po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios (esant mažesniai amžiui *RRM1* raiška dažniau bus maža). Taip pat nustatytas atvirkštinis silpnas ryšys ( $r=-0,367$ ,  $p=0,001$ ) tarp ligos eigos ir *RRM1* geno raiškos kraujyje po 4 mėnesių nuo gydymo pradžios (esant stabiliai ligos eigai *RRM1* raiška dažniau bus didelė) ir silpnas ryšys ( $r=0,473$ ,  $p=0,001$ ) tarp ligos eigos ir *RRM1* geno raiškos kraujyje po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios (esant stabiliai ligos eigai *RRM1* raiška dažniau bus maža).

Tyrime dalyvaujančių pacientų, sergančių nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu, ligos progresavimo tikimybė buvo įvertinta priklausomai nuo nustatytos *RRM1* raiškos kraujyje 4 ir 12 mėnesių po gydymo (25 lentelė).

*Lentelė Nr. 25. Sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu ligos progresavimo tikimybės analizė pagal RRM1 raišką kraujyje po 4 mėnesių ir po 12 mėnesių nuo gydymo pradžios.*

| Parametras                      | <i>RRM1</i> raiška 4 mėnesiai po gydymo | <i>RRM1</i> raiška 12 mėnesių po gydymo |
|---------------------------------|---|---|
|                                 | p (log-rank)                            |   |
| Lytis                           |   |   |
| Vyras                           | 0,013                                   | 0,001                                   |
| Moteris                         | 0,157                                   | 0,157                                   |
| Amžius                          |   |   |
| ≤ 63 metų                       | 0,079                                   | 0,005                                   |
| >63 metų                        | 0,031                                   | 0,033                                   |
| Rūkymas                         |   |   |
| Rūko                            | 0,007                                   | 0,001                                   |
| Nerūko                          | 0,510                                   | 0,475                                   |
| Naviko lokalizacija             |   |   |
| Centrinis                       | 0,210                                   | 0,149                                   |
| Periferinis                     | 0,015                                   | 0,002                                   |
| Naviko histologinis tipas       |   |   |
| Adenokarcinoma                  | 0,052                                   | 0,007                                   |
| Plokščialąstelinė karcinoma     | 0,017                                   | 0,007                                   |
| Naviko diferenciacijos laipsnis |   |   |
| G1                              | –                                       | –                                       |
| G2                              | 0,027                                   | 0,030                                   |
| G3                              | 0,116                                   | 0,008                                   |
| Ligos stadija                   |   |   |
| IB                              | 0,433                                   | 0,046                                   |
| IIA                             | 0,015                                   | 0,044                                   |
| IIB                             | 0,480                                   | 0,535                                   |
| IIIA                            | 0,063                                   | 0,024                                   |
| Naviko dydis                    |   |   |
| T1A                             | –                                       | –                                       |
| T1B                             | 0,655                                   | 0,617                                   |
| T2A                             | 0,087                                   | 0,003                                   |
| T2B                             | 0,079                                   | –                                       |
| T3                              | 0,168                                   | 0,202                                   |
| T4                              | –                                       | –                                       |
| Limfinių mazgų būklė            |   |   |
| N0                              | 0,143                                   | 0,046                                   |
| N1                              | 0,055                                   | 0,059                                   |
| N2                              | 0,164                                   | 0,075                                   |

Atlikta ligos progresavimo analizė Kaplano-Majerio metodu parodė, kad *RRMI* raiška kraujyje po 4 mėnesių ir 12 mėnesių nuo gydymo pradžios vyriška lytimi sergantiesiems laikas iki ligos progresavimo esant mažai *RRMI* raiškai yra trumpesnis. Jaunesniems nei 63 metų pacientams su maža *RRMI* raiška laikas iki ligos progresavimo yra trumpesnis. Tas pats stebima vyresniems nei 63 metų pacientams *RRMI* tyrime po 4 mėnesių ir po 12 mėnesių, kai nustatomas trumpesnis laikas iki ligos progresavimo esant mažai raiškai. Rūkantiems po 4 ir 12 mėnesių *RRMI* maža raiška susijusi su trumpesniu laiku iki ligos progresavimo. Periferiniu naviku sergantiesiems ir esant mažai *RRMI* raiškai po 4 ir 12 mėnesių stebimas trumpesnis laikas iki ligos progresavimo. Sergant plokščialąsteline karcinoma esant mažai *RRMI* raiškai stebimas trumpesnis laikas iki ligos progresavimo nepriklausomai nuo gydymosi laiko, kai tuo tarpu adenokarcinomos atveju ligos progresavimas greičiau pasireiškia tik po 12 mėnesių esant mažai *RRMI* raiškai. Esant G2 naviko diferenciacijai laikas iki ligos progresavimo po 4 mėnesių ir po 12 mėnesių esant mažai *RRMI* raiškai yra trumpesnis lyginant su didele raiška, tuo tarpu esant G3 naviko diferenciacijai liga progresuotų greičiau esant mažai *RRMI* raiškai po 12 mėnesių. Sergantiesiems IIA stadija nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu ir esant mažai *RRMI* raiškai po 4 mėnesių ligai progresuoti yra didesnė tikimybė nei su didele *RRMI* raiška kraujyje. Tuo tarpu IB, IIA ir IIIA stadijomis sergantiesiems nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu esant mažai *RRMI* raiškai po 12 mėnesių ligos progresavimo tikimybė didesnė nei nustatius didelę *RRMI* raišką. Sergantiesiems T2A naviku ligos progresavimas būtų dažnesnis nustatius mažą *RRMI* raišką po 12 mėnesių, kaip ir nesant limfinių mazgų pažeidimo, lyginant su sergančiaisiais nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu ir nustatius didelę *RRMI* raišką.

### **4.3. ERCC1 (118 kodono C/T) ir RRM1 promotorinėje srityje esančių (-37A→C bei -524C→T) genų polimorfizmo tyrimas sergančiųjų nesmulkiažasteliu plaučių vėžiu kraujo mėginiuose**

#### **4.3.1. ERCC1 (118 kodono C/T) geno polimorfizmo tyrimas kraujyje**

Sergančiųjų nesmulkiažasteliu plaučių vėžiu kraujyje prieš pradedant gydymą tirtas *ERCC1* (118 kodono C/T) geno polimorfizmo tyrimas kraujyje, atitinkamai pacientai buvo suskirstyti į lyties, amžiaus medianos, rūkymo, naviko lokalizacijos, naviko histologinio tipo, naviko diferenciacijos laipsnio, ligos stadijos, naviko dydžio, limfinių mazgų būklės, operacijos apimties ir ligos eigos grupes. Pacientų pasiskirstymas pagal pateiktas charakteristikas pateiktas 26 lentelėje. *ERCC1* (118 kodono C/T) geno CC polimorfizmas nustatytas 10 pacientų, CT polimorfizmas nustatytas 34 pacientams, TT polimorfizmas nustatytas 36 pacientams.

Lentelė Nr. 26. ERCC1 (118 kodono C/T) geno polimorfizmo kraujyje analizė priklausomai nuo sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų.

| Parametras   | ERCC1 (118 kodono C/T) polimorfizmas      |   |  |       |
|--|---|---|--|-------|
|  | CC, n (%)                                 | CT, n (%)   | TT, n (%)  | p     |
| Lytis<br>Vyras<br>Moteris  | 9 (12,3)<br>1 (16,7)                      | 31 (42,5)<br>3 (50,0)                                   | 34 (45,2)<br>2 (33,3)  | 0,847 |
| Amžius<br>≤ 63 metų<br>>63 metų  | 5 (12,5)<br>5 (12,8)                      | 19 (47,5)<br>15 (38,5)                                  | 16 (40,0)<br>19 (48,7)   | 0,699 |
| Rūkymas<br>Rūko<br>Nerūko  | 9 (12,9)<br>1 (11,1)                      | 29 (41,4)<br>5 (55,6)                                   | 32 (45,7)<br>3 (33,3)  | 0,717 |
| Naviko lokalizacija<br>Centrinis<br>Periferinis                            | 6 (25,0)<br>4 (7,3)                       | 9 (37,5)<br>25 (45,4)                                   | 9 (37,5)<br>26 (47,3)  | 0,093 |
| Naviko histologinis tipas<br>Adenokarcinoma<br>Plokščialąstelinė karcinoma | 1 (3,3)<br>9 (18,4)                       | 15 (50,0)<br>19 (38,78)                                 | 14 (46,7)<br>21 (42,8)   | 0,140 |
| Naviko diferenciacijos laipsnis<br>G1<br>G2<br>G3                          | 1 (16,7)<br>4 (17,4)<br>5 (10,0)          | 1 (16,7)<br>7 (30,4)<br>26 (52,0)                       | 4 (66,6)<br>12 (52,2)<br>19 (38,0)                                       | 0,291 |
| Ligos stadija<br>IB<br>IIA<br>IIB<br>IIIA                                  | 6 (20,7)<br>2 (8,3)<br>1 (8,3)<br>1 (7,1) | 13 (44,8)<br>12 (50,0)<br>4 (33,3)<br>5 (35,7)          | 10 (34,5)<br>10 (41,7)<br>7 (58,4)<br>8 (57,2)                           | 0,570 |
| Naviko dydis<br>T1A<br>T1B<br>T2A<br>T2B<br>T3<br>T4                       | 0<br>0<br>8 (18,2)<br>0<br>2 (13,3)<br>0  | 0<br>3 (50,0)<br>23 (52,3)<br>5 (45,4)<br>3 (20,0)<br>0 | 2 (100,0)<br>3 (50,0)<br>13 (29,5)<br>6 (54,6)<br>10 (66,7)<br>1 (100,0) | 0,175 |
| Limfinių mazgų būklė<br>N0<br>N1<br>N2                                     | 8 (17,8)<br>2 (8,0)<br>0                  | 20 (44,4)<br>10 (40,0)<br>4 (44,4)                      | 17 (37,8)<br>13 (52,0)<br>5 (55,6)                                       | 0,463 |
| Ligos eiga<br>Stabili liga<br>Ligos progresavimas                          | 9 (14,3)<br>1 (6,3)                       | 25 (39,7)<br>9 (56,3)                                   | 29 (46,0)<br>6 (37,4)  | 0,433 |

G1 – gerai diferencijuotas navikas; G2 – vidutiniškai diferencijuotas navikas; G3 – blogai diferencijuotas navikas; N0 – sritiniuose limfiniuose mazguose metastazių nėra; N1 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio šaknies limfiniuose mazguose; N2 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio tarpuplaučio limfiniuose mazguose.

Iš lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad statistiškai reikšmingo pasiskirstymo tarp ERCC1 (118 kodono C/T) geno polimorfizmo kraujyje ir pacientų klinikinių charakteristikų nėra.



#### 4.3.2. *RRM1* (-37A→C) geno polimorfizmo tyrimas kraujyje

Sergančiųjų nesmulkiaūsteliu plaučių vėžiu kraujyje prieš pradant gydymą tirtas *RRM1* (-37A→C) geno polimorfizmo tyrimas kraujyje, atitinkamai pacientus suskirstant pagal kliniskines charakteristikas. Pacientų pasiskirstymas pagal pateiktas charakteristikas pateiktas lentelėje Nr.27. *RRM1* (-37A→C) geno AA polimorfizmas nustatytas 7 pacientams, CA polimorfizmas nustatytas 49 pacientams, CC polimorfizmas nustatytas 24 pacientams.

Lentelė Nr. 27. *RRM1* (-37A→C) geno polimorfizmo kraujyje analizė priklausomai nuo sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų

| Parametras                      | <i>RRM1</i> (-37A→C) polimorfizmas |           |           |       |
|---------------------------------|------------------------------------|-----------|-----------|-------|
|                                 | AA, n (%)                          | CA, n (%) | CC, n (%) | p     |
| Lytis                           |                                    |           |           |       |
| Vyras                           | 7 (9,5)                            | 46 (62,1) | 21 (28,4) | 0,457 |
| Moteris                         | 0                                  | 3 (50,0)  | 3 (50,0)  |       |
| Amžius                          |                                    |           |           |       |
| ≤ 63 metų                       | 4 (9,8)                            | 23 (56,1) | 14 (34,1) | 0,624 |
| >63 metų                        | 3 (7,7)                            | 26 (66,7) | 10 (25,6) |       |
| Rūkymas                         |                                    |           |           |       |
| Rūko                            | 7 (9,9)                            | 45 (63,4) | 19 (26,7) | 0,168 |
| Nerūko                          | 0                                  | 4 (44,4)  | 5 (55,6)  |       |
| Naviko lokalizacija             |                                    |           |           |       |
| Centrinis                       | 3 (12,0)                           | 14 (56,0) | 8 (32,0)  | 0,722 |
| Periferinis                     | 4 (7,3)                            | 35 (63,6) | 16 (29,1) |       |
| Morfologija                     |                                    |           |           |       |
| Adenokarcinoma                  | 3 (9,7)                            | 19 (61,2) | 9 (29,1)  | 0,968 |
| Plokščialąstelinė karcinoma     | 4 (8,2)                            | 30 (61,2) | 15 (30,6) |       |
| Naviko diferenciacijos laipsnis |                                    |           |           |       |
| G1                              | 1 (16,7)                           | 1 (16,7)  | 4 (66,6)  | 0,050 |
| G2                              | 0                                  | 15 (62,5) | 9 (37,5)  |       |
| G3                              | 6 (12,0)                           | 33 (66,0) | 11 (22,0) |       |
| Ligos stadija                   |                                    |           |           |       |
| IB                              | 5 (16,7)                           | 21 (70,0) | 4 (13,3)  | 0,002 |
| IIA                             | 1 (4,7)                            | 8 (33,3)  | 15 (62,5) |       |
| IIB                             | 1 (8,3)                            | 9 (75,0)  | 2 (16,7)  |       |
| IIIA                            | 0                                  | 11 (78,6) | 3 (21,4)  |       |
| Naviko dydis                    |                                    |           |           |       |
| T1A                             | 0                                  | 2 (100,0) | 0         | 0,703 |
| T1B                             | 0                                  | 2 (33,3)  | 4 (66,7)  |       |
| T2A                             | 5 (11,1)                           | 26 (57,8) | 14 (31,1) |       |
| T2B                             | 1 (9,1)                            | 7 (63,6)  | 3 (27,3)  |       |
| T3                              | 1 (6,7)                            | 11 (73,3) | 3 (20,0)  |       |
| T4                              | 0                                  | 1 (100,0) | 0         |       |
| Limfinių mazgų būklė            |                                    |           |           |       |
| N0                              | 6 (13,0)                           | 30 (65,2) | 10 (21,8) | 0,109 |
| N1                              | 1 (4,0)                            | 12 (48,0) | 12 (48,0) |       |
| N2                              | 0                                  | 7 (77,8)  | 2 (22,2)  |       |
| Ligos eiga                      |                                    |           |           |       |
| Stabili liga                    | 5 (7,8)                            | 39 (60,9) | 20 (31,3) | 0,781 |
| Ligos progresavimas             | 2 (12,5)                           | 10 (62,5) | 4 (25,0)  |       |

G1 – gerai diferencijuotas navikas; G2 – vidutiniškai diferencijuotas navikas; G3 – blogai diferencijuotas navikas; N0 – sritiniuose limfiniuose mazguose metastazių nėra; N1 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio šaknies limfiniuose mazguose; N2 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio tarpuplaučio limfiniuose mazguose.

Iš lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad yra statistiškai reikšmingas pasiskirstymas tarp naviko diferenciacijos laipsnio bei *RRM1* (p=0,05) polimorfizmo variantų. Esant G1 diferenciacijos laipsnio navikui dažniau nustatytas CC variantas, o esant G2 ir G3 diferenciacijos laipsniui – CA polimorfizmo

variantas. Taip pat statistiškai reikšmingai polimorfizmo variantai pasiskirstė tarp ligos stadijų, CA polimorfizmo variantas dažniau identifikuotas esant IB, IIB ir IIIA stadijoms, o CC polimorfizmo variantas – IIA ligos stadijos ( $p=0,002$ ).

#### **4.3.3. RRM1 (-524C→T) geno polimorfizmo tyrimas kraujyje**

Sergančiųjų nesmulkiaūsteliu plaučių vėžiu kraujyje prieš pradedant gydymą tirtas *RRM1* (-524C→T) geno polimorfizmo tyrimas kraujyje, atitinkamai pacientus suskirstant pagal kliniškes charakteristikas. Pacientų pasiskirstymas pagal pateiktas charakteristikas pateiktas 28 lentelėje. *RRM1* (-524C→T) geno CC polimorfizmas nustatytas 15 pacientų, CT polimorfizmas nustatytas 48 pacientams, TT polimorfizmas nustatytas 17 pacientų.

Lentelė Nr. 28. RRM1 (-524C→T) geno polimorfizmo kraujyje analizė priklausomai nuo sergančiųjų nesmulkiaštelio plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų.

| Parametras   | RRM1 (-524C→T) polimorfizmas                 |   |  | p     |
|--|--|---|--|-------|
|  | CC, n (%)                                    | CT, n (%)   | TT, n (%)  |       |
| Lytis<br>Vyras<br>Moteris  | 15 (20,3)<br>0                               | 44 (59,4)<br>4 (66,7)   | 15 (20,3)<br>2 (33,3)                                  | 0,425 |
| Amžius<br>≤ 63 metų<br>>63 metų  | 9 (21,9)<br>6 (15,4)                         | 22 (53,7)<br>26 (66,7)  | 10 (24,4)<br>7 (17,9)                                  | 0,493 |
| Rūkymas<br>Rūko<br>Nerūko  | 14 (19,7)<br>1 (11,1)                        | 45 (63,4)<br>3 (33,3)   | 12 (16,9)<br>5 (55,6)                                  | 0,028 |
| Naviko lokalizacija<br>Centrinis<br>Periferinis                            | 7 (28,0)<br>8 (14,5)                         | 15 (60,0)<br>33 (60,0)  | 3 (12,0)<br>14 (25,5)                                  | 0,210 |
| Naviko histologinis tipas<br>Adenokarcinoma<br>Plokščialąstelinė karcinoma | 6 (19,4)<br>9 (18,4)                         | 17 (54,8)<br>31 (63,2)  | 8 (25,8)<br>9 (18,4)                                   | 0,695 |
| Naviko diferenciacijos laipsnis<br>G1<br>G2<br>G3                          | 1 (16,7)<br>4 (16,7)<br>10 (20,0)            | 2 (33,3)<br>16 (66,6)<br>30 (60,0)                                      | 3 (50,0)<br>4 (16,7)<br>10 (20,0)                      | 0,462 |
| Ligos stadija<br>IB<br>IIA<br>IIB<br>IIIA                                  | 5 (16,7)<br>4 (16,7)<br>2 (16,7)<br>4 (28,6) | 21 (70,0)<br>13 (54,2)<br>7 (58,3)<br>7 (50,0)                          | 4 (13,3)<br>7 (29,1)<br>3 (25,0)<br>3 (21,4)           | 0,755 |
| Naviko dydis<br>T1A<br>T1B<br>T2A<br>T2B<br>T3<br>T4                       | 0<br>0<br>10 (22,2)<br>0<br>5 (33,3)<br>0    | 2 (100,0)<br>4 (66,7)<br>27 (60,0)<br>8 (72,7)<br>6 (40,0)<br>1 (100,0) | 0<br>2 (33,3)<br>8 (17,8)<br>3 (27,3)<br>4 (26,7)<br>0 | 0,478 |
| Limfinių mazgų būklė<br>N0<br>N1<br>N2                                     | 7 (15,2)<br>5 (20,0)<br>3 (33,4)             | 31 (67,4)<br>13 (52,0)<br>4 (44,4)                                      | 8 (17,4)<br>7 (28,0)<br>2 (22,2)                       | 0,516 |
| Ligos eiga<br>Stabili liga<br>Ligos progresavimas                          | 9 (14,1)<br>6 (37,5)                         | 42 (65,6)<br>6 (37,5)   | 13 (20,3)<br>4 (25,0)                                  | 0,062 |

G1 – gerai diferencijuotas navikas; G2 – vidutiniškai diferencijuotas navikas; G3 – blogai diferencijuotas navikas; N0 – sritiniuose limfiniuose mazguose metastazių nėra; N1 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio šaknies limfiniuose mazguose; N2 – yra metastazių tos pačios pusės plaučio tarpuplaučio limfiniuose mazguose.

Iš lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad yra statistiškai reikšmingas pasiskirstymas tarp rūkymo bei RRM1 (p=0,028) polimorfizmo variantų. Rūkantiems didžiausias yra CT polimorfizmo variantas.

#### 4.3.4. ERCC1 (118 kodono C/T) ir RRM1 promotorinėje srityje esančių (-37A→C bei -524C→T)

##### genų polimorfizmo koreliacija

Atlikta koreliacinė analizė pavaizduota 29 lentelėje. Nustatytas koreliacinio ryšio stiprumas tarp *ERCC1* (118 kodono C/T) polimorfizmo, *RRM1* (-37A→C) polimorfizmo, *RRM1* (-524C→T) polimorfizmo ir sergančiųjų nesmulkialąsteliu plaučių vėžiu klinikinių charakteristikų.

Lentelė Nr. 29. Sergančiųjų nesmulkialąsteliu plaučių vėžiu ligos koreliacinė analizė pagal *ERCC1* (118 kodono C/T) geno polimorfizmą, *RRM1* (-37A→C) geno polimorfizmą bei *RRM1* (-524C→T) geno polimorfizmą.

| Parametras                      | <i>ERCC1</i> (118 kodono C/T) geno polimorfizmas |       | <i>RRM1</i> (-37A→C) geno polimorfizmas |       | <i>RRM1</i> (-524C→T) geno polimorfizmas |       |
|---------------------------------|--|-------|---|-------|--|-------|
|                                 | r  | p     | r                                       | p     | r  | p     |
| Lytis                           | -0,064   | 0,287 | 0,140                                   | 0,109 | 0,138                                    | 0,110 |
| Amžius                          | 0,071  | 0,268 | -0,063                                  | 0,288 | -0,001                                   | 0,498 |
| Rūkymas                         | 0,059  | 0,302 | -0,211                                  | 0,030 | -0,238                                   | 0,017 |
| Naviko lokalizacija             | 0,161  | 0,078 | 0,006                                   | 0,479 | 0,197                                    | 0,040 |
| Naviko histologinis tipas       | -0,108   | 0,172 | 0,024                                   | 0,415 | -0,051                                   | 0,328 |
| Naviko diferenciacijos laipsnis | -0,110   | 0,168 | -0,258                                  | 0,010 | -0,075                                   | 0,255 |
| Ligos stadija                   | 0,214  | 0,029 | 0,154                                   | 0,086 | 0,018                                    | 0,437 |
| Naviko dydis                    | 0,165  | 0,073 | -0,138                                  | 0,112 | -0,024                                   | 0,416 |
| Limfinių mazgų būklė            | 0,191  | 0,046 | 0,211                                   | 0,030 | -0,013                                   | 0,455 |
| Ligos eiga                      | -0,023   | 0,421 | -0,072                                  | 0,262 | -0,116                                   | 0,153 |

r – koreliacijos koeficientas

Atlikus koreliacinę analizę nustatytas atvirkštinis silpnas ryšys tarp rūkymo ir *RRM1* (-37A→C) geno polimorfizmo (r=-0,211, p=0,030) bei (-524C→T) geno polimorfizmo (r=-0,238, p=0,017), labai silpnas ryšys tarp naviko lokalizacijos ir *RRM1* (-524C→T) geno polimorfizmo (r=0,197, p=0,040). Taip pat nustatytas atvirkštinis silpnas ryšys tarp naviko diferenciacijos laipsnio ir *RRM1* (-37A→C) geno polimorfizmo (r=0,258, p=0,010), silpnas ryšys tarp ligos stadijos ir *ERCC1* (118 kodono C/T) geno polimorfizmo (r=0,214, p=0,029). Tarp limfinių mazgų būklės ir *ERCC1* (118 kodono C/T) geno polimorfizmo nustatytas labai silpnas ryšys (r=0,191, p=0,046), o tarp limfinių mazgų būklės ir (-37A→C) geno polimorfizmo nustatytas silpnas ryšys (r=0,211, p=0,030).

Tyrime dalyvaujančių pacientų, sergančių nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu, ligos progresavimo tikimybė buvo įvertinta priklausomai nuo nustatyto *ERCC1* (118 kodono C/T) geno polimorfizmo, *RRM1* (-37A→C) geno polimorfizmo bei *RRM1* (-524C→T) geno polimorfizmo. (30 lentelė).

*Lentelė Nr. 30. Sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu ligos progresavimo tikimybės analizė pagal ERCC1 (118 kodono C/T) geno polimorfizmą, RRM1 (-37A→C) geno polimorfizmą bei RRM1 (-524C→T) geno polimorfizmą.*

| Parametras                      | <i>ERCC1</i> (118 kodono C/T) polimorfizmas | <i>RRM1</i> (-37A→C) polimorfizmas | <i>RRM1</i> (-524C→T) polimorfizmas |
|---------------------------------|---|------------------------------------|-------------------------------------|
|                                 | (p log-rank)                                |                                    |                                     |
| Lytis                           |   |                                    |                                     |
| Vyras                           | 0,281                                       | 0,440                              | 0,130                               |
| Moteris                         | 0,607                                       | 0,317                              | 0,480                               |
| Amžius                          |   |                                    |                                     |
| ≤ 63 metų                       | 0,035                                       | 0,905                              | 0,506                               |
| >63 metų                        | 0,974                                       | 0,606                              | 0,108                               |
| Rūkymas                         |   |                                    |                                     |
| Rūko                            | 0,250                                       | 0,954                              | 0,169                               |
| Nerūko                          | 0,241                                       | 0,078                              | 0,212                               |
| Naviko lokalizacija             |   |                                    |                                     |
| Centrinis                       | 0,412                                       | 0,663                              | 0,185                               |
| Periferinis                     | 0,280                                       | 0,679                              | 0,107                               |
| Naviko histologinis tipas       |   |                                    |                                     |
| Adenokarcinoma                  | 0,141                                       | 0,482                              | 0,346                               |
| Plokščialąstelinė karcinoma     | 0,168                                       | 0,986                              | 0,396                               |
| Naviko diferenciacijos laipsnis |   |                                    |                                     |
| G1                              | 0,393                                       | 0,762                              | 0,416                               |
| G2                              | 0,389                                       | 0,150                              | 0,504                               |
| G3                              | 0,051                                       | 0,907                              | 0,171                               |
| Ligos stadija                   |   |                                    |                                     |
| IB                              | 0,409                                       | 0,469                              | 0,403                               |
| IIA                             | 0,325                                       | 0,324                              | 0,752                               |
| IIB                             | 0,683                                       | 0,105                              | 0,542                               |
| IIIA                            | 0,070                                       | 0,953                              | 0,091                               |
| Naviko dydis                    |   |                                    |                                     |
| T1A                             | –   | –                                  | –                                   |
| T1B                             | 0,317                                       | 0,480                              | 0,480                               |
| T2A                             | 0,347                                       | 0,845                              | 0,499                               |
| T2B                             | 0,138                                       | 0,330                              | 0,653                               |
| T3                              | 0,146                                       | 0,006                              | 0,283                               |
| T4                              | –   | –                                  | –                                   |
| Limfinių mazgų būklė            |   |                                    |                                     |
| N0                              | 0,430                                       | 0,531                              | 0,265                               |
| N1                              | 0,419                                       | 0,469                              | 0,682                               |
| N2                              | 0,940                                       | 0,815                              | 0,033                               |

Atlikta ligos progresavimo analizė Kaplano-Majerio metodu parodė, kad esant *ERCCI* (118 kodono C/T) polimorfizmui kraujyje laikas iki ligos progresavimo jaunesniems nei 63 metų amžiaus yra trumpesnis esant CT variantui, lygiai tas pats stebima esant *RRMI* (-37A→C) polimorfizmui bei T3 navikui su CA variantu ir *RRMI* (-524C→T) polimorfizmo CT variantui su N2 pažeistai limfiniais mazgais.

#### **4.4. Sergančiųjų IB – IIIA stadijų nesmulkiašteliniu plaučių vėžiu pacientų ligos progresavimui įtaką darantys veiksniai**

Ankstesniuose skyriuose atlikti tyrimai rodo, kad sergančiųjų plaučių vėžiu ligos progresavimui įtaką daro daugelis tirtų veiksnių. Todėl atlikta daugiaveiksmė analizė, pritaikant proporcingų rizikų regresinę analizę Kokso (angl. Cox) metodu, norint išsiaiškinti kurie veiksniai turi didžiausią įtaką pacientų, sergančių nesmulkiašteliniu plaučių vėžiu, ligos progresavimui. Atlikta analizė įvertinant pacientų klinikines charakteristikas bei *ERCCI* geno raišką navike, kraujyje, bronchų sekrete; *RRMI* raišką navike, kraujyje ir bronchų sekrete, bei *ERCCI* (118 kodono C/T) polimorfizmui, *RRMI* (-37A→C) polimorfizmui ir *RRMI* (-524C→T) polimorfizmui.

Lentelė Nr. 31. Sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu pacientų išgyvenamumui įtakos turinčių veiksnių daugiaveiksniė analizė.

| Parametras                                       | Rizikų santykis | 95% PI         | p     |
|--|-----------------|----------------|-------|
| Lytis  | 0,629           | 0,326 - 1,212  | 0,166 |
| Amžius   | 0,107           | 0,506 - 1,069  | 0,107 |
| Rūkymas  | 0,651           | 0,392 - 1,082  | 0,098 |
| Naviko lokalizacija                              | 0,814           | 0,559 - 1,187  | 0,286 |
| Naviko histologinis tipas                        | 1,128           | 0,997 - 1,276  | 0,055 |
| Naviko diferenciacijos laipsnis                  | 0,983           | 0,723 - 1,336  | 0,911 |
| Ligos stadija                                    | 1,082           | 0,850 - 1,378  | 0,522 |
| Naviko dydis                                     | 0,991           | 0,821 - 1,196  | 0,925 |
| Limfinių mazgų pažeidimas                        | 0,988           | 0,759 - 1,287  | 0,929 |
| <i>ERCCI</i> geno raiška navike                  | 1,020           | 0,957 - 1,086  | 0,546 |
| <i>RRMI</i> geno raiška navike                   | 0,990           | 0,925 - 1,058  | 0,762 |
| <i>ERCCI</i> geno raiška kraujyje                | 0,925           | 0,715 - 1,197  | 0,554 |
| <i>RRMI</i> geno raiška kraujyje                 | 0,934           | 0,759 - 1,149  | 0,517 |
| <i>ERCCI</i> geno raiška bronchų sekrete         | 0,958           | 0,827 - 1,109  | 0,563 |
| <i>RRMI</i> geno raiška bronchų sekrete          | 1,005           | 0,906 - 1,115  | 0,927 |
| <i>ERCCI</i> geno raiška kraujyje po 4 mėn.      | 0,733           | 0,573 - 0,938  | 0,013 |
| <i>ERCCI</i> geno raiška kraujyje po 12 mėn.     | 0,850           | 0,688 - 10,049 | 0,131 |
| <i>RRMI</i> geno raiška kraujyje po 4 mėn.       | 0,678           | 0,491 - 0,937  | 0,019 |
| <i>RRMI</i> geno raiška kraujyje po 12 mėn.      | 0,678           | 0,483 - 0,952  | 0,025 |
| <i>ERCCI</i> (118 kodono C/T) geno polimorfizmas | 0,931           | 0,703 - 1,234  | 0,620 |
| <i>RRMI</i> (-37A→C) geno polimorfizmas          | 1,291           | 0,928 - 1,798  | 0,130 |
| <i>RRMI</i> (-524C→T) geno polimorfizmas         | 1,363           | 1,023 - 1,816  | 0,035 |

Gauti rezultatai rodo (31 lentelė), kad *ERCCI* geno raiška kraujyje po 4 mėn., *RRMI* geno raiška kraujyje po 4 mėn., *RRMI* geno raiška kraujyje po 12 mėn., *RRMI* (-524C→T) geno polimorfizmas yra nepriklausomi sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu pacientų išgyvenamumo prognostiniai veiksniai, o kiti veiksniai išgyvenamumui įtakos neturėjo.

Iš pateiktų duomenų matyti, kad tirtų *ERCCI* ir *RRMI* raiška, sergant nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu yra susijusi su klinikinėmis pataloginėmis pacientų charakteristikomis, gali būti nepriklausomu veiksniumi prognozuojant ligos eigą.



## 5. Rezultatų aptarimas

### 5.1. Įvertinti *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos nustatymo svarbą sergančiųjų ankstyvų stadijų nesmulkiaūsteliu plaučių vėžiu iki ligos progresavimo ar atkryčio po gydymo.

*ERCC1* ir *RRM1* genų raiška navike, kraujyje ir bronchų sekrete buvo klasterizuotos į 2 grupes pagal mažą ir didelę raišką. Įvertinus apskaičiuotus Chi kvadrato testo rezultatus ir panaudojus Spearman'o koreliacijos koeficientą nustatytas statistiškai patikimas ryšys tarp limfinių mazgų būklės ir mažos *RRM1* genų raiškos navike nesant metastazių limfiniuose mazguose. Taip pat nustatyta maža *ERCC1* raiška esant stabiliai ligos eigai, o statistinio patikimumo tarp *ERCC1* ir *RRM1* raiškos bronchų sekrete nenustatyta. Siekiant įvertinti ligos progresavimo sąsają su klinikiniais parametrais ir genų raiška buvo atliktas Kaplano-Majerio log-rank testas, kurio rezultatai leido taikyti Cox daugialypės analizės modelį. Juo remiantis apskaičiuotas koreguotas apibrėžtumo koeficientas, taip pat nustatyta, kad ligos progresavimas po gydymo yra tiesiogiai priklausomas nuo didelės *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos kraujyje po pooperacinio chemoterapinio gydymo. Nustatyta, kad didelė *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška kraujyje po gydymo didina ligos progresavimo tikimybę lyginant su maža raiška. *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška navike, kraujyje prieš gydymą ir bronchų nuoplovose neturi ryšio su ligos progresavimu. Šie mūsų tyrimo metu gauti rezultatai atitinka literatūroje publikuotus duomenis. Su C. su bendraautorais (2011 m.) aprašė *ERCC1* ir *RRM1* genų raišką sergančiųjų nesmulkiaūsteliu plaučių vėžiu klinikiniam rezultatui. Žema *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška koreliavo su geresniu atsaku į gydymą ir geresniu išgyvenamumu (16,5 mėnesių prieš 10 mėnesių esant aukštai genų raiškai) [128]. Zhang H. su bendraautorais (2014 m.) aprašė *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos svarbą bendram išgyvenamumui ir atsakui į gydymą. Nustatyta, kad mažą *ERCC1* ir *RRM1* raišką turėjusiems ligoniams statistiškai patikimai bendras išgyvenamumas buvo geresnis, taip pat stebėtas geresnis gydymo atsakas į platinos pagrindo chemoterapiją [129]. Tą pastebėti galima ir mūsų tyrime. Zhang Q. su bendraautorais (2014 m.) tyrė biologinių žymenų įtakotą chemoterapiją sergantiesiems nesmulkiaūsteliu plaučių vėžiu. Buvo nustatyta, kad bendras atsakas į

gydymą (imant visiško atsako į gydymą, dalinio atsako į gydymą, laiko iki ligos progresavimo, 1 metų išgyvenamumo duomenis) statistiškai patikimai ( $p < 0,05$ ) geresnis buvo skiriant individualizuotą gydymą žinant *ERCCI* ir *RRMI* genų raiškas lyginant su gydytais ligoniais standartiniu gydymu nežinant *ERCCI* ir *RRMI* genų raiškos [130]. Šio tyrimo tikslas buvo taip pat individualizuoti gydymą įvertinus *ERCCI* ir *RRMI* genų raišką. Wang TB. su bendraautoriais (2014 m.) aprašė, kad maža *ERCCI* geno raiška gerina gydymo atsaką chemoterapijai platinos preparatais ir tuo pačiu galima pasiekti geresnius bendro išgyvenamumo rezultatus [131]. Papadaki C. su bendraautoriais (2012 m.) aprašė statistiškai reikšmingą ( $p < 0,05$ ) mažos *ERCCI* geno raiškos įtaką ilgesniam išgyvenamumo laikui iki ligos progresavimo bei bendram išgyvenamumui [104]. Zhang GB. su bendraautoriais (2012 m.) aprašė *ERCCI* ir *RRMI* genų raiškos įtaką navike ir periferiniame kraujyje ligos progresavimui. Nustatyta, kad maža *ERCCI* ir *RRMI* raiška navike arba maža *RRMI* raiška periferiniame kraujyje statistiškai patikimai ( $p < 0,05$ ) gerina atsaką į gydymą, vidutinį išgyvenamumą, laiką iki ligos progresavimo [132]. Bonanno L. (2013 m.) aprašė chemoterapijos parinkimą gydant pažengusią nesmulkiąstelių plaučių vėžį pagal predikcinius žymenis. Nustatyta, kad didelė *ERCCI* geno raiška susijusi su atsparumu cisplatinai gydant nesmulkiąstelių plaučių vėžį, o maža *RRMI* geno raiška susijusi su geresniu bendru išgyvenamumu nesmulkiąstelių plaučių vėžį gydant chemoterapija gemcitabinu [133]. Zhang Q. su bendraautoriais (2016 m.) nagrinėjo genų raišką nesmulkiąstelių plaučių vėžio klinikinei reikšmei. Nustatyta, kad maža *RRMI* ir *ERCCI* genų raiška statistiškai reikšmingai ( $p < 0,05$ ) gerina laiką iki ligos progresavimo po gydymo lyginant su aukšta minėtų genų raiška [134].

Įvertinus darbo metu gautus rezultatus ir literatūros duomenis galima teigti, kad laikas iki ligos progresavimo ar atkryčio po gydymo yra tiesiogiai priklausomas nuo didelės *ERCCI* ir *RRMI* genų raiškos kraujyje po pooperacinio chemoterapinio gydymo.

## 5.2. Įvertinti *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos nustatymo reikšmę po pooperacinio chemoterapinio gydymo ligos prognozei bei geresniam atsakui į pooperacinį gydymą.

Įvertinus *ERCC1* ir *RRM1* genų raišką navike, kraujyje ir bronchų sekrete ir klasterizavus į 2 grupes pagal mažą ir didelę raišką apskaičiuotus Chi kvadrato testo rezultatas, panaudojus Spearman'o koreliacijos koeficientą nustatytas statistiškai patikimas ryšys tarp limfinių mazgų būklės ir mažos *RRM1* genų raiškos navike nesant metastazių limfiniuose mazguose. Taip pat nustatyta maža *ERCC1* raiška esant stabiliai ligos eigai, o statistinio patikimumo tarp *ERCC1* ir *RRM1* raiškos bronchų sekrete nenustatyta. Ligos progresavimo sąsajos įvertinimui su klinikiniais parametrais ir genų raiška buvo atliktas Kaplano-Majerio log-rank testas, kurio rezultatai leido taikyti Cox daugialypės analizės modelį. Juo remiantis apskaičiuotas koreguotas apibrėžtumo koeficientas, taip pat nustatyta, kad ligos progresavimas po gydymo yra tiesiogiai priklausomas nuo didelės *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos kraujyje po pooperacinio chemoterapinio gydymo. Nustatyta, kad didelė *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška kraujyje po gydymo didina ligos progresavimo tikimybę lyginant su maža raiška. *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška navike, kraujyje prieš gydymą ir bronchų nuoplovose neturi ryšio su ligos progresavimu. *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška kraujyje po gydymo gali būti kaip predikcinis žymuo nesmulkiąstelių plaučių vėžio gydymo prognozei. Maža *ERCC1* ir *RRM1* raiška kraujyje lemia geresnį atsaką į pooperacinį chemoterapinį gydymą platinos pagrindo preparatais bei geresnę ligos prognozę. Šie mūsų gauti rezultatai atitinka literatūroje aprašytus. Dar 2006 metais Ceppi P. su bendraautoriais aprašė *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos svarbą išgyvenamumui gydant nesmulkiąstelių plaučių vėžį: vidutinė gyvenimo trukmė statistiškai patikimai ( $p < 0,05$ ) buvo didesnė ligoniams su maža minėtų genų raiška, šių genų raiška gali būti predikcinis žymuo geresnei ligos išėičiai nustyti [32]. Tiseo M. su bendraautoriais (2013 m.) aprašė statistiškai patikimai reikšmingą ( $p < 0,05$ ) mažą *ERCC1* genų raiškos įtaką geresniam atsakui į gydymą, ilgesniam laikui iki ligos progresavimo ir geresniam bendram išgyvenamumui lyginant su didele *ERCC1* geno raiška [135]. Zhao H. su bendraautoriais (2014 m.) aprašė *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos prognostinę reikšmę sergantiesiems nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu gydant chemoterapija. Statistiškai patikimai ( $p < 0,05$ ) nustatyta, kad

didelė *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška susijusi su sumažėjusiu atsaku į gydymą bei padidėjusia ligos progresavimo bei mirties rizika. Todėl maža *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška gali būti kaip predikcinis žymuo gydymo rezultatui [136]. Xian-Jun F. su bendraautorais (2014m.) aprašė teigiamą mažos *ERCC1* geno raiškos įtaką atsakui į chemoterapiją lyginant su didele *ERCC1* geno raiška [137]. Wang L. su bendraautorais (2014 m.) aprašė, kad maža *RRM1* geno raiška reikšmingai padidina atsaką į platinos pagrindo chemoterapiją, taip pasiekiant ilgesnį laiką iki ligos progresavimo ir didesnę bendrą išgyvenamumą. Remiantis šiomis išvadomis teigiama, kad maža *RRM1* geno raiška gali būti naudojama kaip predikcinis žymuo nesmulkiąstelių plaučių vėžio atsakui į gydymą platinos pagrindo chemoterapija ir išgyvenamumui vertinti [138].

Įvertinus darbo metu gautus rezultatus ir literatūros duomenis galima teigti, kad maža *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška kraujyje po pooperacinio chemoterapinio gydymo yra tiesiogiai priklausoma geresnei ligos prognozei bei geresniam atsakui į pooperacinį gydymą.

### **5.3. Ištirti *ERCC1* ir *RRM1* genų polimorfizmus (*ERCC1* 118 kodono ir *RRM1* promotorinėje srityje esančius -37A→C ir -524C→T) sergančiųjų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu kraujyje, bronchų sekrete ir navike dėl galimos ligos progresavimo tikimybės.**

Įvertinus atlikto tyrimo duomenis ir išanalizavus *ERCC1* ir *RRM1* polimorfizmo išraišką kraujyje nustatytas *RRM1* (-524C→T) geno polimorfizmo ryšys su ligos progresavimu po pooperacinio chemoterapinio gydymo. Šie mūsų tyrimo metu gauti rezultatai dalinai atitinka literatūroje publikuotus duomenis, kurie taip pat kol kas yra gana prieštaringi. Yin M. su bendraautorais (2011 m.) aprašė straipsnių metaanalizę apie *ERCC1* C118T polimorfizmą platinos pagrindo chemoterapija gydant nesmulkiąstelių plaučių vėžį ir nustatė, kad nėra statistinio patikimumo susijusio su atsaku į gydymą, laiku iki ligos progresavimo ir bendro išgyvenamumo. Todėl *ERCC1* C118T polimorfizmas negali būti prognostinis bei predikcinis žymuo platinos chemoterapijos pagrindu gydant nesmulkiąstelių plaučių vėžį [139]. Šie duomenys visiškai atitinka mūsų tyrime gautus rezultatus. Wei HB. su bendraautorais (2011

m.) taip pat aprašė straipsnių metaanalizę apie *ERCC1* C118T polimorfizmą platinos pagrindo chemoterapija gydant nesmulkiąstelių plaučių vėžį. Nenustatytas statistinis patikimumas tarp *ERCC1* C118T polimorfizmo ir bendro išgyvenamumo, todėl negali būti prognostinis prediktorius platinos chemoterapijos pagrindu gydant nesmulkiąstelių plaučių vėžį [140]. Yu D. su bendraautoriais (2012 m.) nenustatė *ERCC1* geno polimorfizmo sąsajos su atsaku į gydymą platinos pagrindo preparatais sergantiesiems pažengusiu nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu [141]. Xu TP. su bendraautoriais (2013 m.) taip pat aprašė *ERCC1* C118T polimorfizmo įtaką gydant platinos chemoterapijos pagrindu sergančiuosius nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu: bendras išgyvenamumas buvo geresnis, tačiau objektyvus atsakas į gydymą nebuvo statistiškai patikimas [142]. Mlak R. su bendraautoriais (2013 m.) nustatė, kad *ERCC1* polimorfizmas neturi statistiškai patikimo ryšio su atsaku į gydymą, tačiau *ERCC1* ir *RRM1* TT/CC polimorfizmas įtakoja geresnę ligos kontrolę [143]. Yang Y. su bendraautoriais (2014 m.) nustatė *ERCC1* geno C118T polimorfizmo įtaką blogesnei bendro išgyvenamumo prognozei. Atlikta meta analizė leidžia spręsti, kad *ERCC1* C118T polimorfizmas gali būti predikcinis žymuo nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu sergančiųjų ir gydytų platinos pagrindo chemoterapija klinikinei eigai [144].

Įvertinus darbo metu gautus rezultatus ir literatūros duomenis galima teigti, kad *RRM1* (-524C→T) geno polimorfizmas kraujyje susijęs su ligos progresavimu po pooperacinio chemoterapinio gydymo.

## 6. Išvados

1. Trumpesnis laikas iki ligos progresavimo ar atkryčio po gydymo (atliktos radikalios rezekcinės operacijos bei po to skirtų 4 kursų adjuvantinės PE chemoterapijos) yra tiesiogiai priklausomas tik nuo didelės *ERCC1* ir *RRM1* genų raiškos kraujyje po pooperacinio chemoterapinio gydymo.
2. Maža *ERCC1* ir *RRM1* genų raiška kraujyje po pooperacinio chemoterapinio gydymo yra tiesiogiai priklausoma geresnei ligos prognozei bei geresniam atsakui į pooperacinį gydymą.
3. Tik *RRM1* (-524C→T) geno polimorfizmas kraujyje susijęs su ligos progresavimu po pooperacinio chemoterapinio gydymo.

## 7. Praktinės rekomendacijos

1. Sergantiesiems nesmulkiaštelium plaučių vėžiu būtina atlikti *ERCCI* ir *RRMI* genų tyrimus kraujyje norint sudaryti individualų gydymo ir stebėsenos planą dėl galimo ligos progresavimo ar atkryčio po gydymo, nes tai tiesiogiai priklauso nuo didelės *ERCCI* ir *RRMI* genų raiškos kraujyje po pooperacinio chemoterapinio gydymo.
2. Ligos prognozei bei geresniam atsakui į pooperacinį gydymą nustatyti būtina atlikti *ERCCI* ir *RRMI* genų tyrimus kraujyje, nes tai priklauso nuo mažos *ERCCI* ir *RRMI* genų raiška kraujyje po pooperacinio chemoterapinio.
3. Būtina tirti *RRMI* (-524C→T) geno polimorfizmą kraujyje sergantiesiems nesmulkiaštelium plaučių vėžiu dėl galimo ligos progresavimo po pooperacinio chemoterapinio gydymo, taip parenkant individualų gydymo planą, nes tai susiję su galimu ligos progresavimu.
4. Sergantieji nesmulkiaštelium plaučių vėžiu turi būti gydomi specializuotuose gydymo centruose, kur gydymo komandoje yra krūtinės chirurgas, pulmonologas, chemoterapeutas ir molekulinės diagnostikos specialistas, taip optimizuojant individualų gydymo planą.
5. Tikslinga tęsti DNR pažaidų taisymo sistemos genų molekulinis tyrimus dar geresniam gydymo optimizavimui.

## 8. Literatūra

1. Smailytė G., Aleknavičienė A., Vėžys Lietuvoje 2012 metais. Vilnius 2015, 1-44.
2. Alberg AJ., Samet JM. Epidemiology of lung cancer // *Chest.* – 2003, no. 123, suppl. 1, p. 21S-49S.
3. Smailytė G., Aleknavičienė A. Vėžys Lietuvoje 2008 metais. Vilnius 2011, 1-37.
4. Chen W, Zhang S, Zou X. Evaluation on the incidence, mortality and tendency of lung cancer in China. *Thoracic Cancer.* 2010;1:35–40. doi: 10.1111/j.1759-7714.2010.00011.x.
5. Zhiqiang G., Bohui H., Jie S., Ai Qin G., Dajiang Q., Jinsu H., Chunlei S., Liwen X., Yizhuo Z., Liyan J., Huimin W., Yurong C. ERCC1 protein as a guide for individualized therapy of late-stage advanced non-small cell lung cancer. *Exp Ther Med.* 2011 Sep-Oct; 2(5): 811–815.
6. Suwinski R., Klusek A., Tyszkiewicz T., Kowalska M., Szczśniak-Klusek B., Gawkowska-Suwinska M., Tukiendorf A., Kozielski J., Jarzab M. Gene Expression from Bronchoscopy Obtained Tumor Samples as a Predictor of Outcome in Advanced Inoperable Lung Cancer. *PloS One.* 2012; 7(7): e41379. Published online 2012 July 27. doi: 10.1371/journal.pone.0041379.
7. Li F., Sun X., Sun N., Qin S. et al. Association Between Polymorphisms of ERCC1 and XPD and Clinical Response to Platinum-Based Chemotherapy in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *American Journal of Clinical Oncology* 33:489–494, 2010.
8. Bepler G., Begum M., Simon G.R. Molecular Analysis-Based Treatment Strategies for Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer control,* 15(2):130-139, 2008.
9. Olaussen KA, Dunant A, Fouret P, Brambilla E, Andre F, Haddad V, Taranchon E, Filipits M, Pirker R, Popper HH. et al. DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med.* 2006;355:983–991. doi: 10.1056/NEJMoa060570.
10. Bepler G, Gautam A, McIntyre LM, Beck AF, Chervinsky DS, Kim YC, Pitterle DM, Hyland A. Prognostic significance of molecular genetic aberrations on chromosome segment 11p15.5 in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2002;20:1353–1360. doi: 10.1200/JCO.20.5.1353.



11. Bepler G, Kusmartseva I, Sharma S, Gautam A, Cantor A, Sharma A, Simon G. RRM1 modulated in vitro and in vivo efficacy of gemcitabine and platinum in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24:4731–4737. doi: 10.1200/JCO.2006.06.1101.
12. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin*. 2009;59:225–249.
13. Aggarwal C, Somaiah N, Simon GR. Biomarkers with predictive and prognostic function in non-small cell lung cancer: ready for prime time? *J Natl Compr Canc Netw*. 2010;8:822–832.
14. Wang L., Zhang G., Chen J., Li J., Li M., Xu N., Wang Y., Shentu J. RRM1 gene expression in peripheral blood is predictiv of shorter survival in Chinese patient with advanced non-small-cell lung cancer treated by gemcitabine and platinum. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2011 March; 12(3): 174-179.
15. Perez-Soler R. Individualized therapy in non-small cell lung cancer: future versus current clinical practice. *Oncogene*. 2009;28(Suppl 1):38–45.
16. Chen HY, Yu SL, Chen CH, Chang GC, Chen CY, et al. (2007) A five-gene signature and clinical outcome in non-small cell lung cancer. *NEJM* 356: 11–20.
17. Skrzypski M, Jassem E, Taron M, Sanchez JJ, Mendez P, et al. (2008) Three-gene expression signature predicts survival in early-stage squamous cell carcinoma of the lung. *Clin Cancer Res* 14: 4794–4798.
18. Larsen JE, Pavey SJ, Passmore LH, Bowman R, Clarke BE, et al. (2007) Expression profiling defines a recurrence signature in lung squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis* 28: 760–6.
19. Larsen JE, Pavey SJ, Passmore LH, Bowman RV, Hayward NK, et al. (2007) Gene expression signature predicts recurrence in lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 13: 2946–54.
20. Beer DG, Kardia SL, Huang CC, Giordano TJ, Levin AM, et al. (2002) Gene-expression profiles predict survival of patients with lung adenocarcinoma. *Nat Med* 8: 816–24.
21. Subramanian J, Simon R (2010) Gene expression-based prognostic signatures In lung cancer: ready for clinical use? *JNCI* 102: 464–74.

22. Inamura K, Fujiwara T, Hoshida Y, Isagawa T, Jones MH, et al. (2005) Two subclasses of lung squamous cell carcinoma with different gene expression profiles and prognosis identified by hierarchical clustering and non-negative matrix factorization. *Oncogene* 24: 7105–13.
23. Raponi M, Zhang Y, Yu J, Chen G, Lee G, et al. (2006) Gene expression signatures for predicting prognosis of squamous cell and adenocarcinomas of the lung. *Cancer Res* 66: 7466–72.
24. Reed E. ERCC1 and clinical resistance to platinum-based therapy. *Clin Cancer Res*. 2005;11:6100–6102.
25. Simon G.R., Sharma S., Cantor A., Smith P., Bepler G. ERCC1 expression is a predictor of survival in resected patients with non-small cell lung cancer. *Chest*. 2005;127:978–983.
26. Wei Q., Cheng L., Hong W.K., Spitz M.R. Reduced DNA repair capacity in lung cancer patients. *Cancer Res*. 1996;56:4103–4107.
27. Cheng L., Spitz M.R., Hong W.K., Wei Q. Reduced expression levels of nucleotide excision repair genes in lung cancer: a case-control analysis. *Carcinogenesis*. 2000;8:1527–1530.
28. Stubbe J. Ribonucleotide reductases in the twenty-first century. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95:2723–2724.
29. Davidson J.D., Ma L., Flagella M., Geeganage S., Gelbert L.M., Slapak C.A. An increase in the expression of ribonucleotide reductase large subunit 1 is associated with gemcitabine resistance in non-small cell lung cancer cell lines. *Cancer Res*. 2004;64:3761–3766.
30. Rosell R., Danenberg K.D., Alberola V., Bepler G., Sanchez J.J., Camps C., Provencio M., Isla D., Taron M., Diz P., Artal A. Ribonucleotide reductase messenger RNA expression and survival in gemcitabine/cisplatin-treated advanced non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2004;10:1318–1325.
31. Bergman A., Eijk P., van Haperen V., Smid K., Veerman G., Hubeek I., van den Ijssel P., Ylstra B., Peters G. In vivo induction of resistance to gemcitabine results in increased expression of ribonucleotide reductase subunit M1 as a major determinant. *Cancer Res*. 2005;65:9510–9516.

32. Ceppi P., Volante M., Novello S., Rapa I., Danenberg K.D., Danenberg P.V., Cambieri A., Selvaggi G., Saviozzi S., Calogero R., Papotti M., Scagliotti G.V. ERCC1 and RRM1 gene expressions but not EGFR are predictive of shorter survival in advanced non-small-cell lung cancer treated with cisplatin and gemcitabine. *Ann Oncol.* 2006;17:1818–1825.
33. Nakahira S., Nakamori S., Tsujie M., Takahashi Y., Okami J., Yoshioka S., Yamasaki M., Marubashi S., Takemasa I., Miyamoto A., Takeda Y., Nagano H., Dono K., Umeshita K., Sakon M., Monden M. Involvement of ribonucleotide reductase M1 subunit overexpression in gemcitabine resistance of human pancreatic cancer. *Int J Cancer.* 2007;120:1355–1363.
34. Kim S.O., Jeong J.Y., Kim M.R., Cho H.J., Ju J.Y., Kwon Y.S., Oh I.J., Kim K.S., Kim Y.I., Lim S.C., Kim Y.C. Efficacy of gemcitabine in patients with non-small cell lung cancer according to promoter polymorphisms in the ribonucleotide reductase M1 gene. *Clin Cancer Res.* 2008;14:3083–3088.
35. Gautam A., Bepler G. Suppression of lung tumor formation by the regulatory subunit of ribonucleotide reductase. *Cancer Res.* 2006;66:6497–6502.
36. Fan H., Huang A., Villegas C., Wright J.A. The R1 component of mammalian ribonucleotide reductase has malignancy-suppressing activity as demonstrated by gene transfer experiments. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94:13181–13186.
37. Gautam A., Li Z.R., Bepler G. RRM1-induced metastasis suppression through PTEN-regulated pathways. *Oncogene.* 2003;22:2135–2142.
38. Bepler G., Sharma S., Cantor A., Gautam A., Haura E., Simon G., Sharma A., Sommers E., Robinson L. RRM1 and PTEN as prognostic parameters for overall and disease-free survival in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2004;22:1878–1885.
39. Zheng Z., Chen T., Li X., Haura E., Sharma A., Bepler G. The DNA synthesis and repair genes RRM1 and ERCC1 in lung cancer. *N Engl J Med.* 2007;356:800–808.

40. Akita H., Zheng Z., Takeda Y., Chiwan K., Kittaka N., Kobayashi S., Marubashi S., Takemasa I., Nagano H., Dono K., Nkamori S., Monden M., Mori M., Doki Y., Bepler G. Significance of RRM1 and ERCC1 expression in resectable pancreatic adenocarcinoma. *Oncogene*. 2009;28:2903–2909.
41. Rosell R., Skrzypski M., Jassem E., Taron M., Bartolucci R., Sanchez J.J., Mendez P., Chaib I., Perez-Roca L., Szymanowska A., Rzyman W., Puma F., Kobińska-Gulida G., Farabi R., Jassem J. BRCA1: a novel prognostic factor in resected non-small-cell lung cancer. *PLoS One*. 2007;2:e1129.
42. Saviozzi S., Ceppi P., Novello S., Ghio P., Lo Iacono M., Borasia P., Cambieri A., Volante M., Papotti M., Calogero R.A., Scagliotti G.V. Non-small cell lung cancer exhibits transcript overexpression of genes associated with homologous recombination and DNA replication pathways. *Cancer Res*. 2009;69:3390–3396.
43. Ettinger D.S., Akerley W., Bepler G., Blum M.G., et al. Non-Small Cell Lung Cancer. *Clinical Practice Guidelines in Oncology*. JNCCN 8:740–801, 2010.
44. Isla D, Sarries C, Rosell R, et al. Single nucleotide polymorphisms and outcome in docetaxel-cisplatin-treated advanced non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*, 15(8):1194-1203, 2004.
45. Ryu JS, Hong YC, Han HS, et al. Association between polymorphisms of ERCC1 and XPD and survival in non-small-cell lung cancer patients treated with cisplatin combination chemotherapy. *Lung Cancer*, 44(3):311-316, 2004.
46. de las Penas R, Sanchez-Ronco M, Alberola V, et al. Polymorphisms in DNA repair genes modulate survival in cisplatin/gemcitabine-treated non-small cell lung cancer patients. *Ann Oncol*, 17(4): 668-675, 2006.
47. Tibaldi C, Giovannetti E, Vasile E, et al. Correlation of CDA, ERCC1, and XPD polymorphisms with response and survival in gemcitabine/cisplatin-treated advanced non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res*, 14(6): 1797-1803, 2008.

48. Rosell R., Danenberg K.D., Alberola V., Bepler G., Sanchez J.J. et al. Ribonucleotide Reductase Messenger RNA Expression and Survival in Gemcitabine/Cisplatin-Treated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Clinical Cancer Research* 10:1318-1325, 2004.
49. Zheng Z., Chen T., Li X., Haura E., Sharma A., Bepler G. DNA Synthesis and Repair Genes RRM1 and ERCC1 in Lung Cancer. *N Engl J Med* 356:800-808, 2007.
50. Singh N., Bal A., Aggarwal A.N., Das A., Behera D. Clinical outcomes in non-small-cell lung cancer in relation to expression of predictive and prognostic biomarkers. *Future Oncology* 6(5):741-767, 2010.
51. Simon G., Sharma A., Li X., Hazelton T., Walsh F., Williams C., Chiappori A., Haura E., Tanvetyanon T., Antonia S., Cantor A., Bepler G. Feasibility and efficacy of molecular analysis-directed individualized therapy in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25:2741–2746.
52. Cobo M., Isla D., Massuti B., Montes A., Sanchez J.M., Provencio M., Vinolas N., Paz-Ares L., Lopez-Vivanco G., Munoz M.A., Felip E., Alberola V., Camps C., Domine M., Sanchez J.J., Sanchez-Ronco M., Danenberg K., Taron M., Gandara D., Rosell R. Customizing cisplatin based on quantitative excision repair cross-complementing 1 mRNA expression: a phase III trial in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25:2747–2754.
53. Boyd JA., Hubbs JL., Kim DW., et al. Timing of local and distant failure in resected lung cancer: implications for reported rates of local failure. *J Thorac Oncol.* 2010;5(2):211-214.
54. Vare D., Groth P., Carlsson R., Johansson F., Erixon K., Jenssen D. DNA interstrand crosslinks induce a potent replication block followed by formation and repair of double strand breaks in intact mammalian cells. *DNA Repair (Amst).* 2012 Oct 22. pii: S1568-7864(12)00214-5. doi: 10.1016/j.dnarep.2012.09.010.
55. Cho J., Kook S., Robinson AR., Niedernhofer LJ., Lee BC. Cell autonomous and Non-Autonomous Mechanisms Drive Hematopoietic stem/progenitor Cell Loss in the Absence of DNA Repair. *Stem Cells.* 2012 Oct 23

56. Andrews TD., Baird JW., Wallace WA., Harrison DJ. Routinely obtained diagnostic material as a source of RNA for personalized medicine in lung cancer patients. *J Thorac Oncol.* 2011 May;6(5):884-8.
57. He L., Bi JJ., Guo Q., YU Y., Ye XF. Effects of emodin extracted from Chinese herbs on proliferation of non-small cell lung cancer and underlying mechanisms. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(4):1505-10.
58. Barakat K., Gajewski M., Tuszynski JA. DNA repair inhibitors: the next major step to improve cancer therapy. *Curr Top Med Chem.* 2012;12(12):1376-90.
59. Lu HY., Su D., Pan XD., Jiang H., Ma SL. Mutation and expression of multiple treatment response-related genes in a population with locally advanced non-small cell lung cancer. *Oncol Lett.* 2012 Feb;3(2):415-420.
60. Yu Y., Zhang L., Ren Z., Zhao J., Li Z., Lu S. Efficacy of gemcitabine and vinorelbine in first-line treatment with advanced non-small cell lung cancer: a multicentre retrospective study. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi.* 2012;15(5):281-6.
61. Oguri T., Ozasa H., Uemura T., Takakuwa O., Kunii E., Kasai D., Ohkubo H., Miyazaki M., Maeno K., Sato S. Preclinical rationale for synergistic interaction of pemetrexed and cytotoxic nucleoside analogues. *Oncol Lett.* 2012 Sep;4(3):571-575.
62. Wonganan P., Chung WG., Zhu S. Kiguchi K., Digiovanni J., Cui Z. Silencing of ribonucleotide reductase subunit M1 potentiates the antitumor activity of gemcitabine in resistant cancer cells. *Cancer Biol Ther.* 2012 Aug;13(10):908-14.
63. Pasqualetti G., Ricciardi S., Mey V., Del Tacca M., Danesi R. Synergistic cytotoxicity, inhibition of signal transduction pathways and pharmacogenetics of sorafenib and gemcitabine in human NSCLC cell lines. *Lung Cancer.* 2011 Nov;74(2):197-205.
64. McNeil EM., Melton DW. DNA repair endonuclease ERCC1-XPF as a novel therapeutic target to overcome chemoresistance in cancer therapy. *Nucleic Acids Res.* 2012 Nov 1;40(20):9990-10004.

65. Hao T., Feng W., Zhang J., Sun YJ., Wang G. Association of Four ERCC1 and ERCC2 SNPs with Survival of Bone Tumour Patients. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(8):382 1-4.
66. Fu JM., Zhou J., Shi J., Xie JS., Huang L., Yip AY., Loo WT., Chow LW., NG El. Emodin affects ERCC1 expression in breast cancer cells. *J Transl Med.* 2012 Sep 19;10 Suppl 1:S7.
67. Mojgan H., Massoud H., Ahmad E. ERCC1 intron 1 was associated with breast cancer risk. *Arch Med Sci.* 2012 Sep 8;8(4):655-8.
68. Kao SC., Lee K., Klebe S., Henderson D., McCaughan B., Vardy J., Clarke S., van Zandwijk N. Excision Repair Cross Complementation Group 1 and Thymidilate Synthase Expression in Patients With Mesothelioma. *Clin Lung Cancer*, 2012 Oct 16. pii: S1525-7304(12)00200-8.
69. Zimling ZG., Sorensen JB., Gerds TA., Bech C., Andersen CB., Santoni-Rugiu E. A biomarker profile for predicting efficacy of cisplatin-vinorelbine therapy in malignant pleural mesothelioma. *Cancer Chemoter Pharmacol.* 2012 Nov; 70(5):743-54.
70. Erčulj N., Kovač V., Hmeljak J., Franko A., Dodič-Fikfak M., Dolžan V. The influence of gemcitabine pathway polymorphisms on treatment outcome in patients with malignant mesothelioma. *Pharmacogenet Genomics.* 2012 Jan;22(1):58-68.
71. Wang Z Dr. Polymorphisms in ERCC1, GSTs, TS and MTHFR predict clinical outcomes of gastric cancer patients treated with platinum/5-Fu-based chemotherapy: a systematic review. *BMC gastroenterol.* 2012 Sep 29;12(1):137
72. Bišof V., Jakovčević A., Seiwerth S., Rakušič Z., Gašparov S. Prognostic value of ERCC1 in head and neck carcinoma treated with definitive or adjuvant radiotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2012 Sep 26.
73. Johung K., Rewari A., Wu H., Judson B., Contessa JN., Haffy BG., Decker RH. Role of excision repair cross-complementation 1 expression as a prognostic marker for response to radiotherapy in early-stage laryngeal cancer. *Head Neck.* 2012 Jun 28.

74. Huang PY., Li Y., Mai HQ., Luo RZ., Cai YC., Zhang L. Expression of ERCC1 predicts clinical outcome in locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma treated with cisplatin-based induction chemotherapy. *Oral Oncol.* 2012 Oct;48(10):964-8.
75. Zhao LP., Xue C., Zhang JW., Hu ZH., Zhao YY., Zhang J., Huang Y., Zhao HY., Zhang L. Expression of RRM1 and its association with resistancy to gemcitabine-based chemotherapy in advanced nasopharyngeal carcinoma. *Chin J Cancer.* 2012 Oct;31(10):476-83.
76. Chen DQ., Yao DX., Zhao HY., Yang SJ. DNA repair gene ERCC1 and XPD polymorphisms predict glioma susceptibility and prognosis. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012; 13(6): 279 1-4.
77. Ozcan MF., Dizdar O., Dincer N., Balci S., Guler G., Gok B., Pektas G., Seker MM., Aksoy S., Arslan C., Yalcin S., Balbay MD. Low ERCC1 expression is associated with prolonged survival in patients with bladder cancer receiving platinum-based neoadjuvant chemotherapy. *Urol Oncol.* 2012 Aug 2.
78. Li S., Wu J., Chen Y., Tang W., Peng Q., Deng Y., Xie L., Wang J., Huang S., Li R., Qin X., Zhao J. ERCC1 expression levels predict the outcome of platinum-based chemotherapies in advanced bladder cancer: a meta-analysis. *Anticancer Drugs.* 2014 Jan;25(1):106-14.
79. Kawashima A., Takayama H., Kawamura N., Doi N., Sato M., Hatano K., Nagahara A., Uemura M., Nakai Y., Nishimura K., Miyoshi S., Kawano K., Nishimura K., Nonomura N., Tsujimura A. Co-expression of ERCC1 and Snail is a prognostic but not predictive factor of cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy for bladder cancer. *Oncol Lett.* 2012 Jul;4(1):15-21.
80. Doll CM., Aquino-Parsons C., Pintilie M., Klimowicz AC., Petrillo SK., Milosevic M., Craighead PS., Clarke B., Lees-Miller SP., Fyles AW., Magliocco AM. The Significance of Tumoral ERCC1 Status in Patients With Locally Advanced Cervical Cancer Treated With Chemoradiation Therapy: A Multicenter Clinicopathologic Analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012 Jul 24.
81. Marechal R., Bachet JB., Mackey JR., Dalban C., Demetter P., Graham K., Couvelard A., Svrcek M., Bardier-Dupas A., Hammel P., Sauvanet A., Louvet C., Paye F., Rougier P., Penna C., Andre T., Dumontet C., Cass CE., Jordheim LP., Matera EL., Closset J., Salmon I., Deviere J., Emile JF., Van



- Laethem JL. Levels of gemcitabine transport and metabolism proteins predict survival times of patients treated with gemcitabine for pancreatic adenocarcinoma. *Gastroenterology*. 2012 Sep;143(3):664-74.e1-6.
82. Valsecchi ME., Holdbrook T., Leiby BE., Pequignot E., Littman SJ., Yeo CJ., Brody JR., Witkiewicz AK. Is there a role for the quantification of RRM1 and ERCC1 expression in pancreatic ductal adenocarcinoma? *BMC Cancer*. 2012 Mar 22;12:104.
83. Sakoda LC., Loomis MM., Doherty JA., Julianto L., Barnett MJ., Neuhaus ML., Thornquist MD., Weiss NS., Goodman GE., Chen C. Germ line variation in nucleotide excision repair genes and lung cancer risk in smokers. *Int J Mol Epidemiol Genet*. 2012;3(1):1-17.
84. Lord RV, Brabender J, Gandara D, et al. Low ERCC1 expression correlates with prolonged survival after cisplatin plus gemcitabine chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 8:2286–2291, 2002.
85. Planchard D, Domont J, Taranchon E, Mnet I, Tredaniel J, Caliandro R, Validire P, Besse B, Soria JC, Fouret P. The NER proteins are differentially expressed in ever smokers and in never smokers with lung adenocarcinoma. *Ann Oncol*. 20(7):1257-63, 2009.
86. Postel –Vinay S., Vanhecke E., Olaussen KA., Lord CJ., Ashworth A., Soria JC. The potential of exploiting DNA-repair defects for optimizing lung cancer treatment. *Nat Rev Clin Oncol*. 2012 Feb 14;9(3):144-55.
87. Zhang L., Yang H., Xu J. Gene expression significance in personalized medicine of non-small-cell lung cancer and gene expression analyzing platforms. *Curr Drug Metab*. 2011 Jun;12(5):455-9.
88. Ludovini V., Floriani I, Pistola L., Minotti V., Meacci M., Chiari R., Garavaglia D., Tofanetti FR., Flacco A., Siggillino A., Baldelli E., Tonato M., Crino L. Association of cytidine deaminase and xeroderma pigmentosum group D polymorphisms with response, toxicity and survival in cisplatin/gemcitabine-treated advanced non-small cell lung cancer patients. *J Thorac Oncol*. 2011 Dec;6(12):2018-26.

89. De Andrade M., Li Y., Marks RS., Deshamps C., Scanlon PD., Olswold CL., Jiang R., Swensen SJ., Sun Z., Cunningham JM., Wampfler JA., Limper AH., Midthun DE., Yang P. Genetic variants associated with the risk of chronic obstructive pulmonary disease with and without lung cancer.
90. Rybarova S., Muri J., Hodorova I., Vecanova J., Benicky M., Piovarči D., Janik P., Mihalik J., Mirossay L. Importance of expression of DNA repair proteins in non-small-cell lung cancer. *Klin Onkol.* 2012;25(5):370-4
91. Sodja E., Knez L., Kern I., Ovčariček T., Sadikov A., Cufer T. Impact of ERCC1 expression on treatment outcome in small-cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Eur J Cancer* 2012 Jul 11.
92. Feng J., Wu J., Hu S., Gao C., Shi M., et al. Polymorphisms of the ribonucleotide reductase M1 gene and sensitivity to platin-based chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Lung cancer* 66(3):344-349, 2009.
93. Dong S., Guo A.L., Chen Z.H., Wang Z., Zhang X.C. et al. RRM1 single nucleotide polymorphism - 37C→A correlates with progression-free survival in NSCLC patients after gemcitabine-based chemotherapy. *Journal of Hematology & Oncology* 3:10, 2010.
94. Sereno M., Cejas P., Moreno V., Belda-Iniesta C., Lopez R., Nistal M., Feliu J., De Castro Carpeno J. ERCC1 and topoisomerase I expression in small cell lung cancer: prognostic and predictive implications. *Int J Oncol.* 2012 Jun;40(6):2104-10.
95. Monica V., Longo M., Felice B., Scagliotti GV., Papotti M., Novello S. Role of hormone receptor expression in patients with advanced-stage lung cancer treated with chemotherapy. *Clin Lung Cancer.* 2012 Nov;13(6):416-23.
96. Wei HB., Hu J., Shang LH., Zhang YY., Lu FF., Wei M., Yu Y. A meta-analysis review of ERCC1/MDR1 polymorphism and chemosensitivity to platinum in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Chin Med J (Engl).* 2012 Aug; 125(16):2902-7.

97. Mohammed AEL S., Eguchi H., Wada S., Koyama N., Shimizu M., Otani K., Ohtaki M., Tanimoto K., Hivama K., Gaber MS., Nishiyama M. TMEM158 and FBLP1 as novel marker genes of cisplatin sensitivity in non-small cell lung cancer cells. *Exp Lung Res.* 2012 Nov; 38(9-10):463-74.
98. Gao Z., Han B., Shen J., Gu A., Qi D., Huang J., Shi C., Xiong L., Zhao Y., Jiang L., Wang H., Chen Y. ERCC1 protein as a guide for individualized therapy of late-stage advanced non-small cell lung cancer. *Exp Ther Med.* 2011 Sep;2(5):811-815.
99. Zhang ZY., Tian X., Wu R., Liang Y., Jin XY. Predictive role of ERCC1 and XPD genetic polymorphisms in survival of Chinese non-small cell lung cancer receiving chemotherapy. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012; 13(6):258 3-6.
100. Kotoula V., Krikelis D., Karavasilis V., Koletsa T., Eleftheraki AG., Televantou D., Christodoulou C., Dimoudis S., Korantzis I., Pectasides D., Syrigos KN., Kosmidis PA., Fountzilas G. Expression of DNA repair and replication genes in non-small cell lung cancer (NSCLC): a role for thymidylate synthetase (TYMS). *BMC Cancer.* 2012 Aug 6;12(1):342.
101. Ren S., Chen X., Kuang P., Zheng L., Su C., Li J., Li B., Wang Y., Liu L., Hu Q., Zhang J., Tang L., Li X., Zhou C., Schmid-Bindert G. Association of EGFR mutation or ALK rearrangement with expression of DNA repair and synthesis gene in never-smoker women with pulmonary adenocarcinoma. *Cancer.* 2012 Nov 15;118(22):5588-94.
102. Das M., Riess JW., Frankel P., Schwartz E., Bennis R., Hsieh HB., Liu X., Ly JC., Zhou L., Nieva JJ., Wakelee HA., Bruce RH. ERCC1 expression in circulating tumor cells (CTCs) using a novel detection platform correlates with progression-free survival (PFS) in patient with metastatic non-small-cell lung cancer (NSCLC) receiving platinum chemotherapy. *Lung Cancer.* 2012 Aug;77(2):421-6.
103. Krawczyk P., Wojas-Krawczyk K., Mlak R., Kucharczyk T., Biernacka B., Milanowski J. Predictive value of ERCC1 single-nucleotide polymorphism in patient receiving platinum-based chemotherapy

for locally-advanced and advanced non-small cell lung cancer--a pilot study. *Folia Histochem Cytobiol.* 2012 Apr 24;50(1):80-6.

104. Papadaki C., Sfakianaki M., Ioannidis G., Lagoudaki E., Trypaki M., Tryfonidis K., Mavroudis D., Stathopoulos E., Georgoulas V., Souglakos J. ERCC1 and BRCA1 mRNA expression levels in the primary tumor could predict the effectiveness of the second-line cisplatin-based chemotherapy in pretreated patients with metastatic non-small cell lung cancer. *J Thorax Oncol.* 2012 Apr;7(4):663-71.
105. Zhang L., Gao G., Li X., Ren S., Li A., Xu J., Zhang J., Zhou C. Association between Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) and Toxicity of Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer Patients Treated with Chemotherapy. *PLoS One.* 2012;7(10):e48350.
106. Zhang GB., Chen J., Wang LR., Li J., Li MW., Xu N., Shen-Tu JZ. Expression of RRM1 and ERCC1 genes in tumor tissues and peripheral blood lymphocytes of advanced non-small cell lung cancer. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2012 Sep;41(5):540-6.
107. Vilmar AC., Santoni-Rugiu E., Sorensen JB. Predictive impact of RRM1 protein expression on vinorelbine efficacy in NSCLC patient randomly assigned in a chemotherapy phase III trial. *Ann Oncol.* 2012 Oct 4.
108. Zhang GB., Chen J., Wang LR., Li J., Li MW., Xu N., Wang Y., Shentu JZ. RRM1 and ERCC1 expression in peripheral blood versus tumor tissue in gemcitabine/carboplatin-treated advanced non-small cell lung cancer. *Cancer Chemoter Pharmacol.* 2012 May;69(5):1277-87.
109. Li L., Schaid DJ., Fridley BL., Kalari KR., Jenkins GD., Abo RP., Batzler A., Moon I., Pelleymounter L., Eckloff BW., Wieben ED., Sun Z., Yang P., Wang L. Gemcitabine metabolic pathway genetic polymorphisms and response in patients with non-small cell lung cancer. *Pharmacogenet Genomics.* 2012 Feb;22(2):105-16.
110. Simon GR., Schell MJ., Begum M., Kim J., Chiappori A., Haura E., Antonia S., Bepler G. Preliminary indication of survival benefit from ERCC1 and RRM1-tailored chemotherapy in patients with

advanced non-small cell lung cancer: evidence from an individual patient analysis. *Cancer*. 2012 May 1;118(9):2525-31.

111. Gong W., Zhang X., Wu J., Chen L., Li L., Sun J., Lv Y., Wei X., Du Y., Jin H., Dong J. RRM1 expression and clinical outcome of gemcitabine-containing chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer: a meta-analysis. *Lung Cancer*. 2012 Mar;75(3):374-80.
112. Ryu JS., Shin ES., Nam HS., Yi HG., Cho JH., Kim CS., Kim HJ., Lee JE. Differential effect of polymorphisms of CMPK1 and RRM1 on survival in advanced non-small cell lung cancer patients treated with gemcitabine or taxane/cisplatin. *J thorac Oncol*. 2011 Aug;6(8):1320-9.
113. Gao Z., Han B., Shen J., Gu A., Zhong H. Relations between RRM1 protein expression levels and effects of gemcitabine and cisplatin chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*. 2011 Apr;14(4):340-4.
114. Wang LR., Zhang GB., Chen J., Li J., Li MW., Xu N., Wang Y., Shen Tu JZ. RRM1 gene expression in peripheral blood is predictive of shorter survival in Chinese patients with advanced non-small-cell lung cancer treated by gemcitabine and platinum. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2011 Mar;12(3):174-9.
115. Han JY., Yoon KA., Park JH., Lee YJ., Lee GK., Han JH., Yoon SJ., Yun T., Kim HT., Lee JS. DNA repair gene polymorphisms and benefit from gefitinib in never-smokers with lung adenocarcinoma. *Cancer*. 2011 Jul 15;117(14):3201-8.
116. Bepler G., Olausson KA., Vataire AL., Soria JC., Zheng Z., Dunant A., Pignon JP., Schell MJ., Fouret P., Pirker R., Filipits M., Brambilla E. ERCC1 and RRM1 in the international adjuvant lung trial by automated quantitative in situ analysis. *Am J Pathol*. 2011 Jan;178(1):69-78.
117. Leng XF., Chen MW., Xian L., Dai L., Ma GY., Li MH. Combined analysis of mRNA expression of ERCC1, BAG-1, BRCA1, RRM1 and TUBB3 to predict prognosis in patients with non-small lung cancer who received adjuvant chemotherapy. *J Exp Clin Cancer Res*. 2012; 31(1): 25.
118. Arrigada R., Bergman B., Dunant A. et al. Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2004;350(4): 351-360.

119. Douillard JY., Rosell R., De Lena M. et al. 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 randomized controlled trial. *Lancet Oncol.* 2006;7(9):719-727.
120. Winton T., Livingston R., Johnson D. et al. Vinorelbine plus Cisplatin vs. observation in resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2005;352(25):2589-2597.
121. Strauss GM., Herndon J., Maddaus MA. et al. Randomized clinical trial of adjuvant chemotherapy with paclitaxel and carboplatin following resection in stage IB non-small cell lung cancer (NSCLC): report of Cancer and Leukemia Group B (CALGB) Protocol 9633. *J Clin Oncol.* 2004;22(14S):7019.
122. Scagliotti GV., Fossati R., Torri V. et al. Randomized study of adjuvant chemotherapy for completely resected stage I, II or IIIa non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2003; 95(19):1453-1461.
123. Lin ZZ., Shau WY., Shao YY. et al. Survival following surgery with or without adjuvant chemotherapy for stage I-IIIa non-small cell lung cancer: an east Asian population-based study. *Oncologist.* 2012;17(10):1294-1302.
124. Bepler G., Williams C., Schell MJ. Et al. Randomized international phase III trial of ERCC1 and RRM1 expression-based chemotherapy versus gemcitabine/carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2013;31(19):2404-2412.
125. International association for the Study of Lung Cancer. The IASLC Multidisciplinary Approach to Thoracic Oncology. 2014.
126. Oken, M.M., et al., Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol*, 1982. 5(6): p. 649–55.
127. European Society of Thoracic Surgeons. ESTS Textbook of Thoracic Surgery. 2014.
128. Su C., Zhou S., Zhang L., Ren S., Xu J., Zhang J., Lv M., Zhang J., Zhou C. ERCC1, RRM1 and BRCA1 mRNA expression levels and clinical outcome of advanced non-small cell lung cancer. *Med Oncol.* 2011 Dec;28(4):1411-7.

129. Zhang H., Li j., Zhang Y., Sun M., Zhao P., Zhang G., Jin C., Sun L., He M., Wang B., Zhang X. ERCC1 mRNA expression is associated with the clinical outcome of non-small cell lung cancer treated with platinum based chemotherapy. *Genet Mol Res.* 2014 Dec 4;13(4):10215-22.
130. Zhang Q., Zhu X., Zhang L., Sun S., Huang J., Lin Y. A prospective study of biomarker-guided chemotherapy in patients with non-small-cell-lung-cancer. *Cancer Chemoter Pharmacol.* 2014 Oct;74(4):839-46.
131. Wang TB., Zhang NL., Wang SH., Li HY., Chen SW., Zheng YG. Expression of ERCC1 and BRCA1 predict the clinical outcome of non-small cell lung cancer in patients receiving platinum-based chemotherapy. *Genet Mol Res.* 2014 May 9;13(2):3704-10.
132. Zhang GB., Chen J., Wang LR., Li J., Li MW., Xu N., Wang Y., Shentu JZ. RRM1 and ERCC1 expression in peripheral blood versus tumor tissue in gemcitabine/carboplatin-treated advanced non-small cell lung cancer. *Cancer Chemoter Pharmacol.* 2012 May;69(5):1277-87.
133. Bonanno L. Predictive models for customizing chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *Transl Lung Cancer Res.* 2013 Jun;2(3):160-71.
134. Zhang Q., Sun T., Kang P., Qian K., Deng B., Zhou J., Wang R., Jiang B., Li K., Liu F., Wu S., Tan Q. Combined analysis of rearrangement of ALK, ROS1, somatic mutation of EGFR, KRAS, BRAF, PIK3CA, and mRNA expression of ERCC1, TYMS, RRM1, TUBB3, EGFR in patients with non-small cell lung cancer and their clinical significance. *Cancer Chemoter Pharmacol.* 2016 Mar;77(3):583-93.
135. Tiseo M., Bordi P., Bortesi B., Boni L., Boni C., Baldini E., Grossi F., Recchia F., Zanelli F., Fontanini G., Naldi N., Campanini N., Azzoni C., Bordi C., Ardizzoni A., Bio-FAST trial group. ERCC1/BRCA1 expression and gene polymorphisms as prognostic and predictive factors in advanced NSCLC treated with or without cisplatin. *Br J Cancer.* 2013 Apr 30;108(8):1695-703.

136. Zhao H., Zhang H., Du Y., Gu X. Prognostic significance of BRCA1, ERCC1, RRM1 and RRM2 in patients with advanced non-small cell lung cancer receiving chemotherapy. *Tumor Biol.* 2014;35(12):12679-88.
137. Xian-Jun F., Xiu-Guang Q., Li Z., Hui F., Wan-Ling W., Dong L., Ping-Fa L. ERCC1 and BRCA1 mRNA expression predicts the clinical outcome of non-small cell lung cancer receiving platinum-based chemotherapy. *Pak J Med Sci.* 2014 May;30(3):488-92.
138. Wang L., Meng L., Wang XW., Ma GY., Chen JH. Expression of RRM1 and RRM2 as a novel prognostic marker in advanced non-small cell lung cancer receiving chemotherapy. *Tumour Biol.* 2014 Mar;35(3):1899-906.
139. Yin M., Yan J., Voutsina A., Tibaldi C., Christiani DC., Heist RS., Rosell R., Booton R., Wei Q. No evidence of an association of ERCC1 and ERCC2 polymorphisms with clinical outcomes of platinum-based chemotherapies in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Lung Cancer.* 2011 Jun;72(3):370-7.
140. Wei HB., Lu XS., Shang LH., Xu G., Hu J., Che DH., Liu F., Wu Y., Zhang GM., Yu Y. Polymorphisms of ERCC1 C118T/C8092A and MDR1 C3435T predict outcome of platinum-based chemotherapies in advanced non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Arch Med Res.* 2011 Jul;42(5):412-20.
141. Yu D., Shi J., Sun T. Du X., Liu L., Zhang X., Lu C., Tang X., Li M., Xiao L., Zhang Z., Yuan Q., Yang M. Pharmacogenetic role of ERCC1 genetic variants in treatment response of platinum-based chemotherapy among advanced non-small cell lung cancer patients. *Tumour Bio.* 2012 Jun;33(3):877-84.
142. Xu TP., Shen H., Liu LX., Shu YQ. Association of ERCC1-C118T and C8092A polymorphisms with lung cancer risk and survival of advanced-stage non-small cell lung cancer patients receiving platinum-based chemotherapy: a pooled analysis based on 39 reports. *Gene.* 2013 Sep 10;526(2):265-74.



143. Mlak R., Krawczyk P., Ramlau R., Kalinka-Warzocha E., Wasylecka-Morawiec M., Wojas-Krawczyk K., Kucharczyk T., Homa I., Koziol P., Ciesielka M., Chudziak D., Milanovski J. Predictive value of ERCC1 and RRM1 gene single-nucleotide polymorphisms for first-line platinum- and gemcitabine-based chemotherapy in non-small cell lung cancer patients. *Oncol Rep.* 2013 Nov;30(5):2385-98.
144. Yang Y., Xian L. The association between the ERCC1/2 polymorphisms and the clinical outcomes of the platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer (NSCLC): a systematic review and meta-analysis. *Tumor Biol.* 2014 Apr;35(4):2905-21.

## 9. Mokslinių publikacijų ir pranešimų sąrašas

- Diana Schweigert, Saulius Cicenias, Jaroslav Bublevic, Renatas Askinis, Virginijus Sapoka, Janina Didziapetriene “The role of genetic and other biomarkers in NSCLC prognosis”. Central European Journal of Medicine. Cent. Eur. J. Med. • 9(3) • 2014 • 382-390 DOI: 10.2478/s11536-013-0290-2
- Renatas Aškinis, Arnoldas Krasauskas, Sigitas Zaremba, Saulius Cicėnas, Ankstyvųjų stadijų nesmulkiąstelių plaučių vėžio chirurginio gydymo rezultatai. LIETUVOS CHIRURGIJA 2016, 15 (2-3), p. 84-89; ISSN 1392-0995
- R. Aškinis, D. Schweigert, S. Cicenias. Implication of DNA repair system genes expression and polymorphisms in resected NSCLC. 6th Baltic Congress of Oncology “Multidisciplinary approach in Baltic State”. 2014 10 03-04, Vilnius, Lithuania. The book of abstract, 2014:16.
- Renatas Aškinis, Saulius Cicėnas, Pooperaciniai DNR taisymo sistemos genų raiškos tyrimai ligoniams, sergantiems ankstyvųjų stadijų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu. Bendrosios praktikos Lietuvos gydytojo priedas 2015; ISBN 1392-3218.
- R. Aškinis. VIII Lietuvos ERS (European Respiratory Society) narių konferencija „Intervencinės pulmonologijos ir alergologijos naujovės 2014“. Rusnė, 2014 birželio 6-7 d. Skaitytas pranešimas „Pooperaciniai DNR reparacijos sistemos genų raiškos ir polimorfizmo tyrimai ligoniams, sergantiems ankstyvųjų stadijų plaučių vėžiu“.
- R. Aškinis. VIII-as NVS šalių onkologų ir radiologų suvažiavimas. Rusija, Kazanė, 2014 09 16-18. Pristatytas stendinis pranešimas „DNR reparacijos sistemos genų raiškos ir polimorfizmo tyrimai ligoniams, sergantiems ankstyvųjų stadijų plaučių vėžiu“.

- R. Aškiniš, D. Schveigert, S. Cicenai. Implication of DNA repair system genes expression and polymorphisms in resected NSCLC. 6th Baltic Congress of Oncology “Multidisciplinary approach in Baltic State”. 2014 10 03-04, Vilnius, Lithuania. The book of abstract, 2014:16.
- R. Aškiniš. Lietuvos krūtinės ir širdies chirurgų draugijos XVII suvažiavimas. Kaunas, 2015 10 16. Skaitytas žodinis pranešimas tema „Pooperaciniai DNR taisymo sistemos genų raiškos tyrimai ligoniams, sergantiems ankstyvųjų stadijų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu“.

## 10. Priedai

### 10.1. I priedas. Leidimas atlikti biomedicininį tyrimą



VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETAS

Kodas 211950810, M.K.Čiurlionio 21/27, 03101, Vilnius Tel.(85)2398701, 2398700,faks.2398705,El.p. mf@mf.vu.lt

VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS  
M.K.Čiurlionio 21/27, LT-03101,Vilnius Tel.(85) 2686998, el.p.: rbtek@mf.vu.lt

## LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ

2012-05-08 Nr.158200-05-455-141

Tyrimo pavadinimas:

DNR reparacijos sistemos genų raiškos svarba numatant pacientų, sergančių IB – III A stadijų nesmulkiašteliniu plaučių vėžiu, pooperacinį gydymą

Protokolo Nr.: III-2011-1  
Versija: 2  
Data: 2012-04-23  
Asmens informavimo ir informuoto asmens sutikimo forma (lietuvių kalba):  
Versija: III-2011-1  
Data: 2011-06-30  
Pagrindiniai tyrėjai: R.Aškiniš  
Tyrimo centras:  
Įstaigos pavadinimas: VUOI  
Įstaigos adresas: Santariškių g. 1, LT-08660, Vilnius

Leidimas išduotas Vilniaus regioninio biomedicininių tyrimų etikos komitete posėdžio (protokolas Nr. 158200-2012/05), vykusio 2012 m. gegužės 08 d., sprendimu.

| Vilniaus regioninio biomedicininių tyrimų etikos komiteto ekspertų grupės nariai |                             |                        |                   |
|--|-----------------------------|------------------------|-------------------|
| Nr.  | Vardas, pavardė             | veiklos sritis         | dalyvavo posėdyje |
| 1  | doc. Dr.Laimutė Jakavonytė  | filosofija             | taip              |
| 2  | doc. Dr. Kęstutis Žagminas  | epidemiologija         | taip              |
| 3  | dr. Jaunius Gumbis          | teisė                  | taip              |
| 4  | dr. Marija Veniūtė          | visuomenės sveikata    | ne                |
| 5  | dr. Arūnas Rimkus           | medicina               | taip              |
| 6  | prof.dr. Vytautė Pečiulienė | medicina, odontologija | taip              |
| 7  | Laura Malinauskienė         | medicina               | ne                |
| 8  | dr. Eglė Zubienė            | psichologija           | taip              |
| 9  | Ugnė Šakūnienė              | pacientų teisės        | taip              |

Pirmininkė



Vytautė Pečiulienė

## 10.2. II priedas. Leidimas biomedicininio tyrimo papildymui



VILNIAUS UNIVERSITETAS  
MEDICINOS FAKULTETAS

VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS  
M.K.Čiurlionio 21/27, 03101, Vilnius Tel./faks.:(85)2686998, el.p.: rbtek@mf.vu.lt

Biomedicininio tyrimo

2012-07-03 Nr. 158200-455-PP1-22

„DNR reparacijos sistemos genų raiškos svarba  
numatant pacientų, sergančių IB – III A stadijų  
nesmulkialąsteliu plaučių vėžiu, pooperacinį gydymą“  
pagrindiniam tyrėjui. R.Aškiniui

Dėl leidimo Nr. 158200-05-455-141  
papildymo Nr. 1, 2012-06-11

### PAŽYMA

Vilniaus regioninis biomedicininių tyrimų etikos komitetas susipažino su jūsų prašymu leisti papildyti biomedicininio tyrimo „DNR reparacijos sistemos genų raiškos svarba numatant pacientų, sergančių IB – III A stadijų nesmulkialąsteliu plaučių vėžiu, pooperacinį gydymą“, kuriam atlikti 2012-05-08 išduotas leidimas Nr. 158200-05-455-141, protokola.

Komiteto posėdžio, vykusio 2012-07-03 metu pritarta jūsų prašymui ir neprieštarujama:

1. papildyti tyrimo protokolą (papildymo versija Nr. 1, 2012-06-11);
2. įtraukti papildomus tyrėjus Dr. Živilę Gudlevičienę, Aušrą Stumbrytę;

Pirmininkė

Vytautė Pečiulienė

### 10.3. III priedas. Asmens informavimo forma

Nr. III-2011-1, 2011-06-30  
DNR reparacijos sistemos genų raiškos svarba numatant  
pacientų, sergančių IB – IIIA stadijų nesmulkiąsteliu  
plaučių vėžiu, pooperacinį gydymą

#### ASMENS INFORMAVIMO FORMA

Kviečiame Jus dalyvauti moksliniame klinikiniame tyrime „DNR reparacijos sistemos genų raiškos svarba numatant pacientų, sergančių IB – IIIA stadijų nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu, pooperacinį gydymą“.

Dalyvauti šiame tyrime kviečiami ligoniai, kuriems diagnozuotas nesmulkiąstelis plaučių vėžys. Sergamumas plaučių vėžiu Lietuvoje ir pasaulyje didėja, reikalaujamas vis didesnių investicijų. Mirtingumas nuo plaučių vėžio Lietuvoje siekia 80,1/100 000 gyventojų ir užima 3-ą vietą Europoje. Ligonių 5 m. gyvenimo trukmė nepriklausomai nuo gydymo būdo, Lietuvoje siekia 10% atvejų. DNR reparacijos sistemos genų raiškos nustatymas prieš gydymą bei gydymo eigoje (atlikus plaučio rezekciją naviko pašalinimui ir taikant adjuvantinę terapiją pagal VUOI patvirtintus plaučių vėžio gydymo standartus) leistų labiau individualizuoti gydymą ir pagerintų betarpiškus ir atokius plaučių vėžio gydymo rezultatus

Tyrimo metu taip pat bus imama 3 ml kraujo iš venos bei navikinė medžiaga, kurie bus tiriami dėl naujų biologinių žymenų: ERCC1, RRM1, ERCC1 118 kodono, RRM1 promotorinėje srityje esančių -37A→C ir -524C→T, kurie svarbūs ligos prognozei įvertinti. Tai nauji biologiniai žymenys, kurie dar kol kas nėra rutiniškai naudojami kasdienėje onkologijos praktikoje, bet tikimasi, kad jie bus naudingi, kaip minėta, vertinti galimybę ligai recidyvuoti ar progresuoti.

Jūs kviečiamas dalyvauti šiame perspektyviniame tyrime, todėl prašome perskaityti šią formą.

Tyrimo tikslas – Įvertinti DNR pažeidimų reparacijos sistemos genų ERCC1 ir RRM1 raišką, numatant pacientų, sergančių IB – IIIA stadijų (T1aN0-1M0, T1bN0-1M0, T2aN0-1M0, T2bN0-1M0, T3N0-1M0) nesmulkiąsteliu plaučių vėžiu, pooperacinį gydymą.

Jūsų gydymo eiga dėl dalyvavimo studijoje nesikeis ir papildomų išlaidų nereikalaus. Jūs bet kada galėsite atsisakyti dalyvauti tyrime ir tai visiškai neįtakos tolimesnės Jūsų gydymo priežiūros. Iškilus neaiškumams ar ieškant papildomos informacijos galite kreiptis į pagrindinį tyrėją Renatą Aškinį (tel. 2786764).

Medicininė dokumentacija bus užrašoma ir saugoma. Jūsų asmeniniai duomenys ir duomenys apie ligą nebus viešinami. Jei Jums kyla klausimų dėl Jūsų, kaip biomedicininio tyrimo dalyvio teisių, prašome kreiptis į Vilniaus regioninio biomedicininio tyrimų etikos komitetą (tel. 2686-998).

Šio projekto Nr. III-2011-1, 2011-06-30

Data: \_\_\_\_\_

Paciento parašas \_\_\_\_\_

Pagrindinis tyrėjas \_\_\_\_\_

## 10.4. IV priedas. Informuoto asmens sutikimo forma

Nr. III-2011-1, 2012-06-11, 3 vers.  
DNR reparacijos sistemos genų raiškos svarba  
numatant pacientų, sergančių IB – IIIA stadijų  
nesmulkialąstelių plaučių vėžiu, pooperacinį gydymą

### INFORMUOTO PACIENTO SUTIKIMO FORMA

Tyrimo pavadinimas: DNR reparacijos sistemos genų raiškos svarba numatant pacientų, sergančių IB – IIIA stadijų nesmulkialąstelių plaučių vėžiu, pooperacinį gydymą

Pagrindinis tyrėjas: Renatas Aškinis

**Paciento vardas, pavardė** .....

**Gimimo data** .....

Aš perskaiciau pateiktą informaciją apie tyrimą, kuriame esu pakviestas dalyvauti. Turėjau galimybę aptarti smulkmenas ir užduoti iškilusius klausimus. Gydantis gydytojas paaiškino tyrimo esmę bei tikslą ir aš suprantu, kas man yra siūloma.

Aš buvau informuotas apie tyrimą ir suprantu, kad šis tyrimas yra svarbus, gerinant diagnostiką ir yra patvirtintas Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto.

Aš supratau, kad mano dalyvavimas tyrime yra laisvanoriškas ir aš galiu nevaržomas iš jo pasitraukti bet kuriuo metu, nenurodydamas priežasties, ir šis sprendimas neturės neigiamo poveikio mano sveikatos priežiūrai.

Jeigu atliekant tyrimą prireiks medicininių paciento dokumentų, tyrėjams bus suteikta teisė susipažinti su mano asmens sveikatos istorija.

Suprantu, kad mano dalyvavimas tyrime ir mano individualūs tyrimo duomenys liks paslapyje. Pasinaudoti šiais duomenimis galės tik tyrėjai.

Esu informuotas, kad atliekamas tyrimas neturi žalingo poveikio. Man paaiškinta, kad tyrimo metu bus paimta pašalinto naviko dalis ir veninis kraujas tyrimui. Suprantu, kad imant mėginius gali būti nemalonūs pojūčiai, tačiau suprantu, kad šio tyrimo metu bus papildomai atlikti genetiniai ir imunofermeniniai tyrimai, kurie svarbūs ligos prognozei. Man pažadėtas konfidencialumas bei gautų duomenų saugumas. Aš taip pat sutinku, kad šio tyrimo rezultatai gali būti publikuojami, bet mano tapatybė nebus atskleista. Aš sutinku, kad tyrėjai pasinaudos mano duomenimis, esančiais ligos istorijoje, kuri gali būti naudojama šio ir kito tyrimo tikslams. Taip pat sutinku, kad likusi mano biologinė medžiaga po šio tyrimo bus saugoma VUOI Biobanke ateities moksliniams tyrimams.

Šažoningai ir laisva valia sutinku dalyvauti tyrime, kuris man buvo išaiškintas.

**Sutinku dalyvauti tyrime: paciento parašas, data** .....

Sutinku, kad tyrėjai pasinaudos mano duomenimis: paciento parašas, data .....

Aš, gydantis gydytojas, patvirtinu, kad paaiškinau anksčiau paminėtam pacientui (savanoriui) būsimojo tyrimo esmę ir tikslą.....

Data:.....

Jeigu Jums iškilo problemų dėl šio tyrimo, prašome pranešti:

Pagrindinis tyrėjas (vardas, pavardė, parašas): .....

## 11. Padėka

Doktorantūros metu dirbdamas mokslinį darbą sutikau daug žmonių, kurie tikrai man padėjo, be ko šis darbas nebūtų atliktas iki galo.

Noriu padėkoti savo moksliniam vadovui prof. Habil. dr. Sauliui Cicėnui už mintį pradėti mokslinį darbą bei reiklumą jį dirbant, pastabas ir nurodymus darbo metu, mokslinę pagalbą.

Padėka Nacionalinio Vėžio Instituto Mokslinių Tyrimų Centro darbuotojoms Dianai Schveigert ir Julijai Fadejevai už pagalbą ir pamokymus atliekant molekulinis tyrimus.

Didelis dėkui Vilniaus universiteto Vidaus ligų, šeimos medicinos ir onkologijos klinikos vadovui prof. dr. Virginijui Šapokai už palaikymą ir metodologinius patarimus.

Noriu padėkoti Nacionalinio Vėžio Instituto Krūtinės chirurgijos ir Onkologijos skyriaus visiems darbuotojams už supratingumą ir pagalbą gydant ir slaugant sergančiuosius nesmulkiaūsteliu plaučių vėžiu.

Ačiū žmonai Ramunei ir sūnums Martynui bei Augustui už palaikymą dirbant bei komfortiškų darbo sąlygų sudarymą rašant disertaciją.

Ačiū mamai ir tėčiui už tikėjimą sėkminga darbo baigtimi.

O taip pat didelis ačiū visiems šiame tyrime dalyvavusiems pacientams už jų supratingumą dėl šio darbo reikalingumo.