

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

УДК 543.9+616.24-006

**ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ
ЭСТРОГЕНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ АЛЬФА В ТКАНИ
НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО****Татьяна Анатольевна Богуш¹, Анна Александровна Башарина¹, Илья Павлович Романов¹, Анна Николаевна Гришанина¹, Елена Александровна Богуш², Александр Михайлович Щербаков¹, Анна Борисовна Равчеева¹, Алексей Ли¹, Вячеслав Станиславович Косоруков¹**¹ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина Министерства здравоохранения Российской Федерации² Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет)**Автор, ответственный за переписку:** Татьяна Анатольевна Богуш, tatbogush@mail.ru

Аннотация. Иммунофлуоресцентным методом, сопряженным с проточной цитометрией, проведена количественная оценка экспрессии эстрогеновых рецепторов альфа (ER α) в 115 образцах немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). Показано, что высокий уровень ER α ($\geq 20\%$) прогнозирует большую агрессивность НМРЛ, чем при низком уровне ($< 20\%$): медиана выживаемости при 78 мес. наблюдения увеличена в 1,5 раза, риск смерти снижен приблизительно в 2,0 раза ($p = 0,04$). Время наступления летального исхода приблизительно у 20% больных с низкой экспрессией ER α увеличено в среднем на 18 мес. Результаты валидируют информативность иммунофлуоресцентного анализа и проточной цитометрии для количественной оценки экспрессии ER α и обосновывают перспективность антиэстрогеновой терапии как новой опции лечения НМРЛ, в частности, по аналогии с раком молочной железы – в длительном адъювантном режиме у пациентов с ER α^+ НМРЛ.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, прогноз, эстрогеновые рецепторы альфа, метод Каплана–Майера, иммунофлуоресцентный анализ, проточная цитометрия

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2024-65-3-218–227

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение о субсидии № 075-15-2021-1060 от 28.09.2021, и в рамках НИР ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России 2023–2025 гг., рег. № 123021500076-3.

Для цитирования: Богуш Т.А., Башарина А.А., Романов И.П., Гришанина А.Н., Богуш Е.А., Щербаков А.М., Равчеева А.Б., Ли А., Косоруков В.С. Иммунофлуоресцентный анализ экспрессии эстрогеновых рецепторов альфа в ткани немелкоклеточного рака легкого // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2024. Т. 65. № 3. С. 218–227.

ORIGINAL ARTICLE

**IMMUNOFLUORESCENCE ANALYSIS OF ESTROGEN RECEPTORS
ALPHA EXPRESSION IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER TISSUE**

**Tatiana A. Bogush¹, Anna A. Basharina¹, Iliia P. Romanov¹, Anna N. Grishanina¹,
Elena A. Bogush², Alexander M. Scherbakov¹, Anna B. Ravcheeva¹, Alexey Lee¹,
Vyacheslav S. Kosorukov¹**

¹ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation

² The State Education Institution of Higher Professional Training The First Sechenov Moscow State Medical University under Ministry of Health of the Russian Federation

Correspondence author: Tatiana A. Bogush, tatbogush@mail.ru

Abstract. Quantitative assessment of estrogen receptors alpha (ER α) expression was carried out in 115 samples of non-small cell lung cancer (NSCLC) by an immunofluorescent assay and flow cytometry. It has been shown that high level of ER α $\geq 20\%$ predicts higher aggressiveness of NSCLC than at low level $< 20\%$: median survival at 78 mos of follow-up is increased by 1.5 times; the risk of death is reduced by almost 2.0 times ($p = 0.04$). Time to death was increased by an average of 18 mos in about 20% of patients with low ER α expression. The results validate informative value of immunofluorescence analysis and flowcytometry for quantifying the ER α expression and substantiate the prospects of antiestrogen therapy as a new option for NSCLC treatment, in particular, by analogy with breast cancer – in a long-term adjuvant therapy in ER α^+ NSCLC patients.

Keywords: non-small cell lung cancer, prognosis, estrogen receptor alpha, Kaplan-Meier method, immunofluorescence analysis, flow cytometry

Financial Support. The work was carried out with the support of the RF Ministry of Science and Higher Education, subsidy agreement no. 075-15-2021-1060 dated September 28, 2021, and the Research Project of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of 2023–2025 (no. № 123021500076-3).

For citation: Bogush T.A., Basharina A.A., Romanov I.P., Grishanina A.N., Bogush E.A., Scherbakov A.M., Ravcheeva A.B., Lee A., Kosorukov V.S. Immunofluorescence analysis of estrogen receptors alpha expression in non-small cell lung cancer tissue // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Chemistry. 2024. T. 65. № 3. S. 218–227.

Широкое распространение рака легкого, неудовлетворительные результаты химиотерапии и высокая летальность делают необходимым поиск новых патогенетически обоснованных подходов к лечению и прогнозированию этого заболевания.

К настоящему времени доказана вовлеченность в патогенез рака легкого эстрогеновых рецепторов (ER α и ER β) и в ряде исследований продемонстрирована важная роль эстрогенов в возникновении и развитии немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) [1–3]. Перспективность гормональной терапии больных НМРЛ с экспрессией в опухоли эстрогеновых рецепторов показана в фундаментальных исследованиях.

Так, в культурах НМРЛ отмечены стимуляция пролиферации и миграционной активности клеток с экспрессией эстрогеновых рецепторов воздействием эстрогенов и ингибирование при воздействии антиэстрогенов [4–10]. В экспериментах на животных при воздействии эстрадиола отмечено увеличение размера и количества метастазов аденокарциномы Льюис в легких с повышением уровня экспрессии эстрогеновых рецепторов в их ткани, при этом эффект применения у мышей тамоксифена был противоположным [11]. Введение эстрадиола мышам с индуцированным легочным канцерогенезом стимулировало пролиферацию опухолевых клеток, а также множественность и размер опухолевых узлов [12].

Интересны результаты совместного применения антиэстрогенов с ингибиторами тирозинкиназ. Показано повышение цитотоксичности при совместном применении препаратов в культурах клеток НМРЛ [13–16] и эффективности лечения мышей с трансплантированным НМРЛ [14, 16]. Обнадёживают и клинические результаты совместного применения антиэстрогенов с ингибиторами тирозинкиназ [17, 18], а также с доцетакселом и цисплатином, даже в случае резистентности к последнему препарату [19–21].

Однако остаются противоречивыми данные о частоте и уровне экспрессии эстрогеновых рецепторов в опухолевой ткани больных НМРЛ [22] и клинической прогностической значимости в оценке агрессивности течения болезни. При этом результаты различаются при исследовании прогностической значимости как ER α , так и ER β [23–28]. По мнению большинства исследователей, одной из причин этого являются методические ошибки при полуколичественном определении статуса эстрогеновых рецепторов в опухоли иммуногистохимическим методом, который рутинно используется в клинике.

Серьёзных недостатков иммуногистохимического анализа позволяет избежать ассоциированный с проточной цитометрией иммуно-флуоресцентный метод, разработка которого является приоритетом Онкологического центра им. Н.Н. Блохина [29]. Метод лишен субъективизма, позволяет одновременно количественно анализировать 5–10 тыс. клеток из клеточных суспензий, которые получают из хирургических образцов опухолей большого размера (до 2 см и более в диаметре). Показатель экспрессии эстрогеновых рецепторов при этом становится интегральным по большому объёму опухоли, а не по локальному участку, как при иммуногистохимическом анализе, что в значительной степени нивелирует вклад внутриопухолевой гетерогенности в результат анализа.

Этот методический подход использован в настоящем исследовании, целью которого стало определение прогностической значимости количественной оценки уровня экспрессии ER α в ткани немелкоклеточного рака легкого как фактора прогноза агрессивности течения болезни и целесообразности проведения адъювантной антиэстрогеновой терапии.

Материалы и методы

Проведен сравнительный анализ продолжительности жизни больных НМРЛ, различа-

ющихся по уровню экспрессии ER α в опухоли (суммарно 115 хирургических биопсийных образцов) при сроке наблюдения 78 мес. после хирургического вмешательства. Экспрессия ER α в исследованной выборке образцов опухоли оценена нами ранее иммунофлуоресцентным методом, ассоциированным с проточной цитометрией [30].

Кратко, для оценки экспрессии маркера одноклеточные суспензии, полученные из образца опухоли [29], инкубировали в течение ночи (15–20 ч) при 4 °C с первичными моноклональными антителами к С-концевому фрагменту ER α (клон SP1, ab16660, Abcam) в конечном разведении 1:1600. Далее, после однократной отмывки клеток 2 мл 0,5%-го раствора бычьего сывороточного альбумина (BSA) проводили инкубацию в течение 1,5 ч при 4 °C с вторичными антителами, конъюгированными с красителем DyLight650 (ab98510, Abcam), в конечном разведении 1:1000. Для удаления из анализа клеточного дебриса и эритроцитов клетки в течение 15 мин инкубировали с ДНК красителем Hoechst H33258 (Sigma-Aldrich) в концентрации 1,2 мгк/мл, после чего дважды отмывали 2 мл 0,5%-го раствора BSA.

Измерение флуоресценции клеток проведено на проточном цитометре «Navios» (Beckman Coulter) с использованием каналов FL6 и FL9 для регистрации флуоресценции красителей DyLight650 и Hoechst H33258 соответственно. Оценен уровень экспрессии ER α (количество специфически флуоресцирующих клеток (%) относительно контроля при инкубации клеток только с вторичными антителами), рассчитанный в программе FlowJo 10.0 (FlowJo) с помощью метода Колмогорова–Смирнова.

Для обработки полученных результатов использованы статистические методы, включенные в пакет программы GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software). Характер распределения образцов опухоли в исследованной выборке по уровню экспрессии маркера оценен с помощью критерия Шапиро–Уилка. Адекватность групп сравнения для проведения анализа Каплана–Майера оценена по категориальным признакам с помощью критерия Фишера, для оценки по количественным признакам использовали непарный *t*-критерий Стьюдента. Для проведения сравнительного анализа общей выживаемости пациентов в зависимости от уровня экспрессии ER α в ткани опухоли построены кривые Каплана–Майера (критерий log-rank) и проведе-

на оценка отношения рисков (hazard ratio, HR). Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Характеристика когорты больных НМРЛ, включенных в настоящее исследование, по количественному показателю экспрессии в опухоли ERα проведена нами ранее [29]. Для выбора адекватных групп сравнения при проведении статистического анализа методом Каплана–Майера прежде всего оценена сопоставимость групп по медиане уровня экспрессии маркера и по числу цензурированных событий при сроке наблюдения 78 мес. (табл. 1).

Полученные результаты показали, что медиана уровня экспрессии ERα в выборке всех исследованных больных (включая цензурированные случаи) идентична показателю в группе пациентов, переживших 12 мес. после хирургического вмешательства (20%). Сходный результат получен при сравнении групп пациентов с точно зафиксированной продолжительностью жизни, т.е. умерших в течение 78 мес. после хирургической операции – медиана уровня экспрессии ERα составила 19%. При этом отмечено практически полное совпадение показателей квартилей медианы в группах с включением цензурированных событий и без них.

Однако при сравнении числа цензурированных событий в группах с уровнем экспрессии ERα выше и ниже медианы (<20 и ≥20%) вы-

явлены различия по числу таких событий: в выборке всех включенных в исследование пациентов – в 1,7 раз (42% vs 25%), а в группе больных, переживших 12 мес. после хирургического вмешательства – в 1,5 раза (50% vs 34%). Принимая во внимание, что группы сравнения должны быть равнозначны по числу цензурированных событий, полученный результат поставил под сомнение адекватность включения этих данных в сравнительный анализ продолжительности жизни больных НМРЛ в зависимости от уровня экспрессии ERα в опухоли методом Каплана–Майера. Для анализа выбраны группы сравнения без цензурированных событий – пациенты, умершие в течение 78 мес. после хирургической операции.

Условие, которое должно выполняться при проведении любого сравнительного анализа – сходство сущностных характеристик групп сравнения. В нашем случае это клинико-морфологические характеристики заболевания.

Данные, представленные в табл. 2, показывают, что по важнейшим клинико-морфологическим характеристикам, ассоциированным с агрессивностью течения НМРЛ (возраст и пол пациента, статус курильщика), а также по гистологическому типу опухоли и стадии заболевания группы сравнения, включенные в исследование, были идентичными (во всех случаях $p > 0,05$).

Таким образом, выявлено практически идеальное совпадение всех клинически-значимых параметров в группах сравнения без цензурированных событий, выбранных для построения

Таблица 1

Характеристика исследованной выборки по уровню экспрессии ERα и числу цензурированных событий при сроке наблюдения 78 мес.

Пациенты	Число пациентов в группах	Медиана уровня ERα [Q1; Q3], % ³	Число цензурированных событий		Различие ⁵
			все пациенты	в группах сравнения ⁴	
Вся выборка	115 ¹	20,0 [14,0; 27,0]	34%	25%	1,7
				42%	
	83 ²	20,0 [14,0; 28,0]	42%	34%	1,5
				50%	
Умершие	75 ¹	19,0 [13,0; 26,0]	нет		
	48 ²	19,0 [13,0; 28,5]			

Примечания: ¹ в группу включены все пациенты общей выборки; ² в группу включены пациенты, пережившие 12 мес. после хирургического вмешательства; ³ [Q1; Q3] – нижний квартиль; верхний квартиль; ⁴ деление на группы сравнения с высокой и низкой экспрессией ERα проведено по показателю медианы 20%; ⁵ отношение числа цензурированных событий в группах сравнения.

Т а б л и ц а 2

Клинико-морфологические характеристики заболевания в группах сравнения по уровню экспрессии ERα в ткани НМРЛ при сроке наблюдения 78 мес.

Характеристики заболевания	Характеристики групп сравнения ⁴			
	Все больные (n = 75)		Больные, пережившие 12 мес. после операции (n = 48)	
	Уровень ERα		Уровень ERα	
	<20% (n = 56)	≥20% (n = 59)	<20% (n = 27)	≥20% (n = 21)
Возраст, годы	60±9,5	59±9,7	56±9,5	57±9,8
p^2	0,98		0,71	
Пол				
Мужчины	84%	80%	81%	90%
Женщины	16%	20%	19%	10%
p^3	0,76		0,45	
Статус курильщика ¹				
Курят	46%	54%	71%	94%
Не курят	52%	48%	29%	6%
p^3	0,35		0,11	
Гистотип опухоли				
Аденокарцинома	53%	46%	37%	43%
Плоскоклеточный рак	47%	54%	63%	57%
p^3	0,14		0,77	
Стадия болезни				
I + II	51%	41%	59%	40%
III	49%	49%	41%	60%
p^3	0,99		0,24	

Примечания: ¹ статус курильщика в группах сравнения установлен для 96 и 59 пациентов; ² статистическая значимость различий между группами сравнения (p) рассчитана с помощью непарного t -теста; ³ статистическая значимость различий между группами сравнения (p) рассчитана с помощью критерия Фишера; ⁴ n – число пациентов в группе.

кривых Каплана–Майера. Сравнительный анализ продолжительности жизни больных НМРЛ с разным уровнем экспрессии в опухоли ERα проведен при фиксированном сроке наступления летального исхода в течение 78 мес. (6,5 лет) наблюдения после хирургической операции. Полученные результаты представлены на рис. 1.

На рис. 1, А представлены кривые Каплана–Майера, позволившие оценить различия продолжительности жизни пациентов, включенных в исследование, при делении на группы с низким и высоким уровнем экспрессии ERα по медиане показателя – низкий (<20%) vs высокий (≥20%).

Между группами сравнения выявлено различие в медиане ожидаемой продолжительности жизни, которая в 1,6 раза выше при низкой экспрессии ERα по сравнению с высоким уровнем маркера в опухоли (22,5 мес. vs 14,0 мес.). Различия статистически значимы ($p = 0,04$), при этом риск наступления смерти в группе с высокой экспрессией ERα в 1,7 раза выше. Однако обращает на себя внимание тот факт, что до 12 мес. после операции кривые Каплана–Майера в группах сравнения не отличаются и «расходятся» только после этого срока. Учитывая, что вклад в наступление летального исхода в этот период после полостной

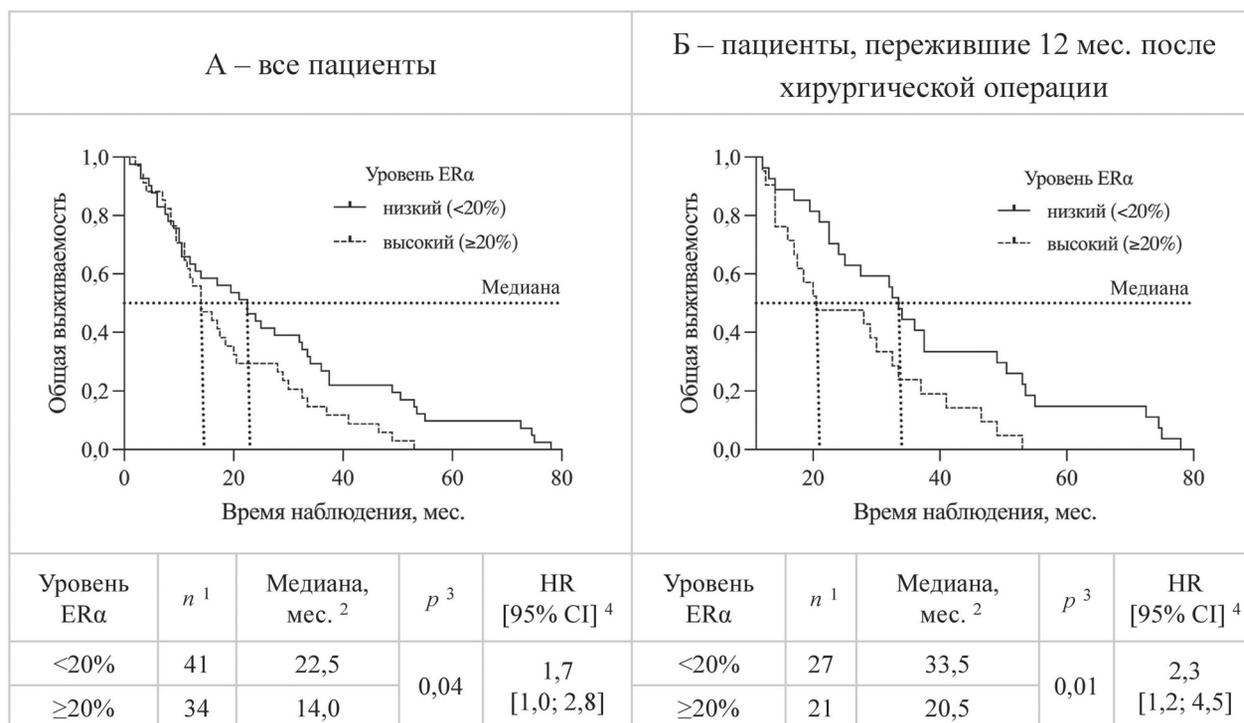


Рис. 1. Общая выживаемость больных НМРЛ с высоким и низким уровнем экспрессии ERα в опухоли при границе деления на группы сравнения 20% (кривые Каплана–Майера, срок наблюдения 78 мес.): ¹ число пациентов в группе; ² медиана продолжительности жизни: точки на оси времени, в которой значение функции выживания равно 0,5; ³ статистическая значимость различий между группами сравнения рассчитана с помощью критерия log-rank; ⁴ HR [95% CI] – соотношение рисков (hazard ratio) [95% доверительный интервал]

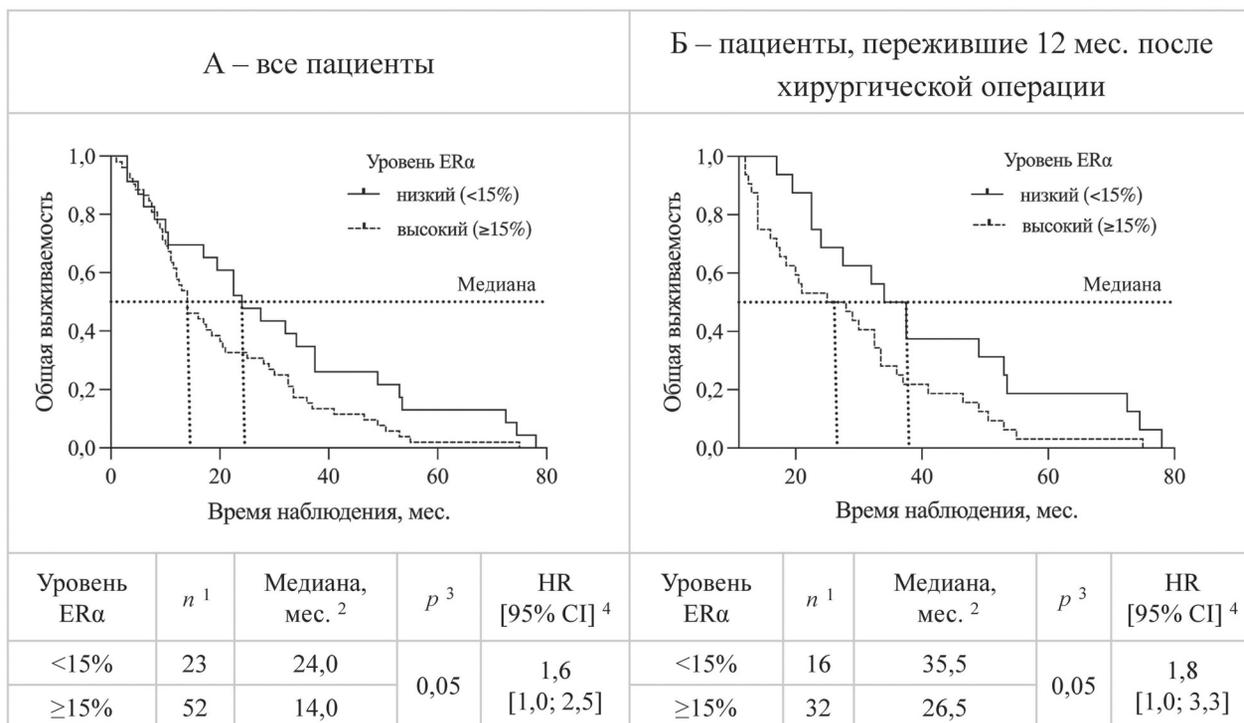


Рис. 2. Общая выживаемость только умерших больных НМРЛ в зависимости от уровня экспрессии ERα в опухоли при границе деления на группы сравнения 15% (кривые Каплана–Майера, срок наблюдения 78 мес.): ¹ число пациентов в группе; ² медиана продолжительности жизни: точки на оси времени, в которой значение функции выживания равно 0,5; ³ статистическая значимость различий между группами сравнения рассчитана с помощью критерия log-rank; ⁴ HR [95% CI] – соотношение рисков (hazard ratio) [95% доверительный интервал]

операции может вносить не только основное заболевание, но и послеоперационные осложнения, анализ продолжительности жизни больных НМРЛ в группах с разным уровнем экспрессии в опухоли ERα проведен и у пациентов, которые пережили 12 мес. после оперативного вмешательства и далее оставались под наблюдением до 78 мес. (рис. 1, Б).

Между этими группами сравнения также выявлено увеличение медианы ожидаемой продолжительности жизни в 1,6 раза (33,5 мес. vs 20,5 мес.) в группе с низким уровнем ERα по сравнению с высокой экспрессией маркера. Различия достигли большей статистической значимости ($p = 0,01$), при этом и риск наступления смерти в группе с высокой экспрессией ERα оказался выше в 2,3 раза.

Обращает на себя внимание тот факт, что смерть последнего пациента в группе с высокой экспрессией ERα в опухоли наступила на 53-м месяце наблюдения, тогда как в группе с низким уровнем экспрессии маркера в опухоли были живы 5 из 27 пациентов (около 20%). Иными словами, в этой группе время наступления смерти при сроке наблюдения 6,5 лет «отодвинуто» в среднем на 18 мес.

В совокупности, полученные результаты указывают на вклад ERα в агрессивность течения НМРЛ, а именно, на неблагоприятную прогностическую значимость маркера. По аналогии с лечением ERα⁺ рака молочной железы, становится очевидной возможность антиэстрогеновой терапии больных НМРЛ, у которых в опухоли экспрессированы ERα. Возникает вопрос: при каком уровне экспрессии маркера прогноз остается значимым и у какого числа пациентов?

Ответ получен при анализе кривых Каплана–Майера с границами деления на группы с высокой и низкой (менее 20%) экспрессией ERα. Данные, представленные на рис. 2, А, Б, свидетельствуют, что прогностическая значимость показателя достигает статистической значимости ($p = 0,05$) при снижении границы деления на высокий и низкий уровень экспрессии ERα до 15%. При этом сохраняется выраженность и направленность различий между группами сравнения: риск наступления смерти в группе с уровнем ERα $\geq 15\%$ более чем в 1,5 раза выше по сравнению с экспрессией маркера в опухоли (<15 %).

В итоге необходимо отметить, что сравнительный анализ Каплана–Майера продолжитель-

ности жизни больных НМРЛ с разным уровнем экспрессии в опухоли ERα позволил определить важные с клинической точки зрения факты, при этом клинико-морфологические характеристики НМРЛ в группах сравнения без цензурированных событий были идентичными.

Показано, что уровень ERα $\geq 20\%$ в опухоли прогнозирует большую агрессивность НМРЛ, чем в случаях с низкой экспрессией этого маркера в опухоли, при этом с высокой статистической значимостью выявленных различий ($p = 0,01$) риск наступления летального исхода при высокой экспрессии ERα почти в 2,5 раза выше. Более того, в группе с низким уровнем ERα около 20% пациентов имеют выигрыш в продолжительности жизни – в среднем около 18 мес. при сроке наблюдения 78 мес. Эти результаты позволили положительно ответить на поставленный в работе вопрос о прогностической ценности количественного показателя уровня маркера – экспрессия ERα в опухоли является неблагоприятным прогностическим фактором течения НМРЛ. Важно отметить, что этот результат совпадает с ранее опубликованными данными [31–33] и в совокупности обосновывает перспективность антиэстрогеновой терапии как возможной новой опции лечения НМРЛ.

Анализ данных литературы показал, что такую точку зрения разделяют многие исследователи, но обращает на себя внимание тот факт, что работы по оценке эффективности применения антиэстрогенов в терапии НМРЛ направлены на выявление их активности как дополнительного средства при лечении этого заболевания либо в комбинации с ингибиторами тирозинкиназ [17, 18], либо с препаратами платины и таксанов, в том числе и при индуцированной резистентности к ним [19–21]. Интересна серия исследований, в которой выявлена эффективность сочетанного применения тамоксифена с группой классических цитостатиков – ифосфамидом, эпурибуцином и цисплатином [34, 35].

Однако сходство роли эстрогеновых рецепторов в патогенезе НМРЛ и рака молочной железы позволяет утверждать, что это не оптимальная опция для выявления эффективности антиэстрогенов у больных НМРЛ. По существу, ситуация аналогична раку молочной железы, но золотым стандартом лечения этого заболевания уже более 50 лет остается терапия тамоксифеном больных с экспрессией в опухоли ERα в длительном адьювантном режиме. Считаем, что именно этот

режим может быть эффективен у пациентов с ERα⁺ НМРЛ.

И наконец, в работе получен ответ на вопрос о доли пациентов с НМРЛ, которые могут составить когорту потенциальных претендентов на проведение гормональной терапии антиэстрогенами. Оказалось, что неблагоприятная прогностическая значимость агрессивности течения НМРЛ проявляется при уровне ERα в опухоли ≥15%, который выявлен в 75% случаев. Именно эти пациенты могут получить выигрыш от применения антиэстрогенов, в частности тамоксифена. Как упоминалось выше, этот препарат уже на протяжении более 50 лет остается золотым стандартом лечения рака молочной железы

с позитивным статусом ERα в длительном адьювантном режиме и, что, безусловно, очень важно, доступен для пациентов с любым достатком.

В заключение подчеркнем, что полученные результаты продемонстрировали валидность количественной оценки показателя уровня экспрессии ERα иммунофлуоресцентным методом, сопряженным с проточной цитометрией, который лишен субъективизма, проводится в условиях «мягкой» преаналитической подготовки материала в интегральной суспензии клеток из образца опухоли не менее 2 см в диаметре, что значительно нивелирует молекулярную гетерогенность опухоли [29] и позволяет получить объективный портрет опухоли по исследуемому маркеру.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Slatore C.G., Chien J.W., Au D.H., Satia J.A., White E. // *J. Clin. Oncol.* 2010. Vol. 28. P. 1540 (DOI: 10.1200/JCO.2009.25.9739).
2. Chlebowski R.T., Wakelee H., Pettinger M., Rohan T., Liu J., Simon M., Tindle H., Messina C., Johnson K., Schwartz A., Gass M., Wactawski-Wende J. // *Clin. Lung Cancer.* 2016. Vol. 17. N 1. P. 10.e1 (DOI: 10.1016/j.clcc.2015.09.004).
3. Ganti A.K., Sahmoun A.E., Panwalkar A.W., Tendulkar K.K., Potti A. // *J. Clin. Oncol.* 2006. Vol. 24. N 1. P. 59 (DOI: 10.1200/JCO.2005.02.9827).
4. Rodriguez-Lara V., Hernandez-Martinez J.M., Arieta O. // *J. Thorac. Dis.* 2018. Vol. 10. N 1 (DOI: 10.21037/jtd.2017.12.61).
5. Rodriguez-Lara V., Ignacio G.S., Cerbón Cervantes M.A. // *Endocr Res.* 2017. Vol. 42. N 3. P. 219 (DOI: 10.1080/07435800.2017.1292526).
6. Hammoud Z., Tan B., Badve S., Bigsby R.M. // *Endocr Relat Cancer.* 2008. Vol. 15. N 2. P. 475.
7. Zhao X.Z., Liu Y., Zhou L.J., Wang Z.Q., Wu Z.H., Yang X.Y. // *Onco Targets Ther.* 2015. Vol. 8. P. 2849 (DOI: 10.2147/OTT.S90085).
8. Klinge C.M. // *Future Oncol.* 2012. Vol. 8. N 5. P. 529 (DOI: 10.2217/fon.12.42).
9. Wang X.Y., Wang Y., Liu H.C. // *Biomed Pharmacother.* 2011. Vol. 65. № 7. P. 525 (DOI: 10.1016/j.biopha.2011.06.002).
10. Tang H., Liao Y., Zhang C., Chen G., Xu L., Liu Z., Fu S., Yu L., Zhou S. // *Oncol Res.* 2014. Vol. 22. N 1. P. 13 (DOI: 10.3727/096504014X14077751730315).
11. Zhao X.Z., Liu Y., Zhou L.J., Wang Z.Q., Wu Z.H., Yang X.Y. // *Onco Targets Ther.* 2015. Vol. 8. P. 2849 (DOI: 10.2147/OTT.S90085).
12. Hammoud Z., Tan B., Badve S., Bigsby R.M. // *Endocr Relat Cancer.* 2008. Vol. 15. N 2. P. 475.
13. Xu R., Shen H., Guo R., Sun J., Gao W., Shu Y. // *Biomed Pharmacother.* 2012. Vol. 66. N 5. P. 384 (DOI: 10.1016/j.biopha.2012.02.004).
14. Stabile L.P., Lyker J.S., Gubish C.T., Zhang W., Grandis JR, Siegfried J.M. // *Cancer Res.* 2005. Vol. 65. N 4. P. 1459 (DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1872).
15. Shen H., Yuan Y., Sun J., Gao W., Shu Y.Q. // *Biomed Pharmacother.* 2010. Vol. 64. N 2. P. 88 (DOI: 10.1016/j.biopha.2009.06.010).
16. Garon E.B., Pietras R.J., Finn R.S., Kamranpour N., Pitts S., Márquez-Garbán D.C., Desai A.J., Dering J., Hosmer W., von Euw E.M., Dubinett S.M., Slamon D.J. // *J. Thorac. Oncol.* 2013. Vol. 8. N 3. P. 270 (DOI: 10.1097/JTO.0b013e31827d525c).
17. Traynor A.M., Schiller J.H., Stabile L.P., Kolesar J.M., Eickhoff J.C., Dacic S., Hoang T., Dubey S., Marcotte S.M., Siegfried J.M. // *Lung Cancer.* 2009. Vol. 64. N 1. P. 51 (DOI: 10.1016/j.lungcan.2008.07.002).
18. Garon E.B., Siegfried J.M., Dubinett S.M., Elashoff R.M., Park D.J., Parikh R.J., Patel R., Hu E.H., Reckamp K.L., Adams B., Martinez D., Wang H.J., Kabbnavolar F., Dacic S., Brennan M., Laux I., Marquez-Garban D.C., Stabile L.P., Slamon D.J., Pietras R.J. // *Cancer Res.* 2013. Vol. 73. N 8 Suppl. Abstract nr 4664 (DOI:10.1158/1538-7445.AM2013-4664).
19. Lara P.N. Jr., Gandara D.R., Longmate J., Gumerlock P.H., Lau D.H., Edelman M.J., Gandour-Edwards R., Mack P.C., Israel V., Raschko J., Frankel P., Perez E.A., Lenz H.J., Doroshow J.H. // *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2001. Vol. 48. N 1. P. 22 (DOI: 10.1007/s002800100293).
20. Perez E.A., Gandara D.R., Edelman M.J., O'Donnell R., Lauder I.J., DeGregorio M. // *Cancer Invest.* 2003. Vol. 21. N 1. P. 1 (DOI: 10.1081/cnvol-120016397).
21. Wen S., Fu X., Li G., He L., Zhao C., Hu X., Pan R., Guo C., Zhang X., Hu X. // *Anticancer Drugs.* 2016. Vol. 27. N 5. P. 447 (DOI: 10.1097/CAD.0000000000000350).
22. Bogush T.A., Dudko E.A., Beme A.A., Bogush E.A., Kim A.I., Polotsky B.E., Tjuljandin S.A., Davydov M.I. // *Biochemistry (Mosc).* 2010. Vol. 75. N 12. P. 1421 (DOI: 10.1134/s0006297910120011).
23. Chen X.Q., Zheng L.X., Li Z.Y., Lin T.Y. //

- J. Int. Med. Res. 2017. Vol. 45. N 1. P. 51 (DOI: 10.1177/0300060516666229).
24. Ma L., Zhan P., Liu Y., Zhou Z., Zhu Q., Miu Y., Wang X., Jin J., Li Q., Lv T., Song Y. // *Transl. Lung. Cancer. Res.* 2016. Vol. 5. N 27. P. 202 (DOI: 10.21037/tlcr.2016.04.04).
 25. Skjefstad K., Grindstad T., Khanekkenari M.R., Richardsen E., Donnem T., Kilvolaer T. Andersen S., Bremnes R.M., Busund L.T., Al-Saad S. // *Steroids.* 2016. Vol. 113. P. 5. (DOI: 10.1016/j.steroids.2016.05.008).
 26. Baik C.S., Eaton K.D. // *Cancers (Basel).* 2012. Vol. 4. P. 969 (DOI: 10.3390/cancers4040969).
 27. Berardi R., Morgese F., Santinelli A., Onofri A., Biscotti T., Brunelli A., Caramanti M., Savolini A., De Lisa M., Ballatore Z., Pompili C., Salati M., Mazzanti P., Torniai M., Cascinu S. // *Oncotarget.* 2016. Vol. 7. N 50. P. 82648. (DOI: 10.18632/oncotarget.12244).
 28. Li W., Tse L.A., Wang F. // *Steroids.* 2015. Vol. 104. P. 129 (DOI: 10.1016/j.steroids.2015.09.005).
 29. Bogush T.A., Basharina A.A., Eliseeva B.K., Kaliuzhny S.A., Bogush E.A., Kirsanov V., Davydov M.M., Kosorukov V.S. // *Biotechniques.* 2020. Vol. 69. N 4. P. 257 (DOI: 10.2144/btn-2020-0024).
 30. Bogush T.A., Samsonik S.A., Basharina A.A., Bogush E.A., Ryabinina O.M., Grishanina A.N., Kirsanov V.Yu., Karpukhin A.V., Kosorukov V.S. // *Antibiotics and Chemotherapy.* 2021. Vol. 66. N 5–6. P. 23 (In Russ.) (DOI: 10.37489/0235-2990-2021-66-5-6-23-29).
 31. Kawai H., Ishii A., Washiya K., Konno T., Kon H., Yamaya C., Ono I., Minamiya Y., Ogawa J. // *Clin Cancer Res.* 2005. Vol. 11 N 14. P. 5084 (DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0200).
 32. Kawai H., Ishii A., Washiya K., Konno T., Kon H., Yamaya C., Ono I., Ogawa J. // *Anticancer. Res.* 2005. Vol. 25. N 6. C. P. 4693.
 33. Raso M.G., Behrens C., Herynk M.H., Liu S., Prudkin L., Ozburn N.C., Woods D.M., Tang X., Mehran R.J., Moran C., Lee J.J., Wistuba I.I. // *Clin. Cancer. Res.* 2009. Vol. 15. N 17. P. 5359 (DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0033).
 34. Chen Y.M., Perng R.P., Yang K.Y., Lin W.C., Wu H.W., Liu J.M., Tsai C.M., Whang-Peng J. // *Am. J. Clin. Oncol.* 2000. Vol. 23. N 1. P. 13 (DOI: 10.1097/00000421-200002000-00003).
 35. Chen Y., Perng R.P., Yang K.Y., Lin W.C., Wu H.W., Tsai C.M., Whang-Peng J. // *Lung Cancer.* 2000. Vol. 29. N 2. P. 139 (DOI: 10.1016/s0169-5002(00)00106-9).

Информация об авторах

Татьяна Анатольевна Богуш – руководитель группы молекулярного прогноза опухолей лаборатории молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заслуженный деятель науки РФ, докт. биол. наук, профессор (tatbogush@mail.ru, ORCID: 0000-0002-7673-4284);

Анна Александровна Башарина – ст. науч. сотр. группы молекулярного прогноза опухолей лаборатории молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, канд. биол. наук (basharinaa@inbox.ru, ORCID: 0000-0002-4739-7733);

Илья Павлович Романов – аспирант группы молекулярного прогноза опухолей лаборатории молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (biosophy@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-9931-1153);

Анна Николаевна Гришанина – науч. сотр. группы молекулярного прогноза опухолей лаборатории молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, labmedchem@mail.ru, ORCID: 0000-0002-4277-9222;

Елена Александровна Богуш – ассистент кафедры онкологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), канд. мед. наук (labmedchem@mail.ru, ORCID: 0000-0001-5601-3669);

Александр Михайлович Щербаков – ст. науч. сотр., и.о. заведующего лаборатории онкопротеомики отдела экспериментальной биологии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, канд. биол. наук, (alex.scherbakov@gmail.com, ORCID: 0000-0002-2974-9555);

Анна Борисовна Равчеева – науч. сотр. группы молекулярного прогноза опухолей лаборатории молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, канд. биол. наук (labmedchem@mail.ru, ORCID: 0000-0001-5969-0219);

Алексей Ли – лаборант-исследователь группы молекулярного прогноза опухолей лаборатории молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, (leealexey1411@gmail.com, ORCID: 0000-0002-9931-1153);

Вячеслав Станиславович Косоруков – директор НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей, зав. лабораторией молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, канд. биол. наук (labmedchem@mail.ru, ORCID: 0000-0002-8462-2178).

Вклад авторов

Все авторы внесли эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Все процедуры, выполненные в данной работе, соответствуют этическим стандартам институционального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 года и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. У всех пациентов получено письменное информированное согласие.

Статья поступила в редакцию 05.10.2023;
одобрена после рецензирования 24.10.2023;
принята к публикации 11.12.2023.